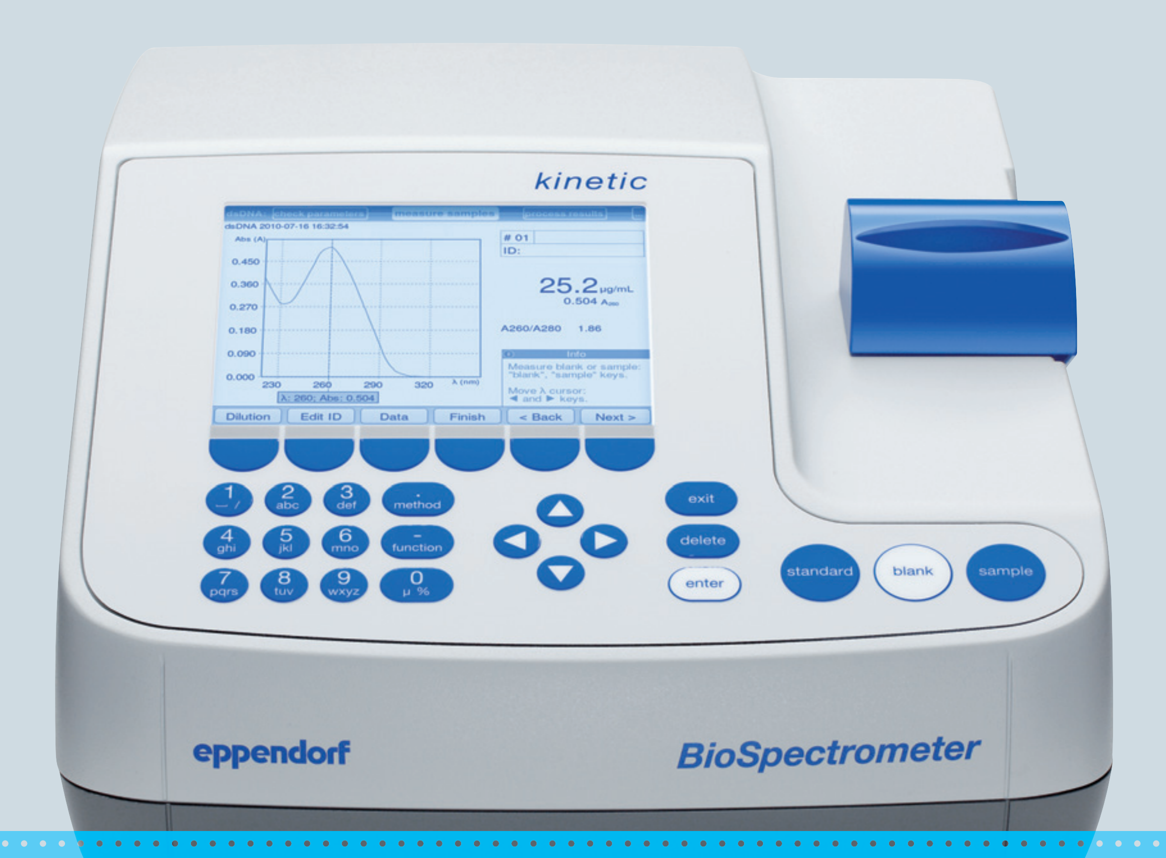


Register your instrument!
www.eppendorf.com/myeppendorf



Eppendorf BioSpectrometer® kinetic

Bedienungsanleitung

Trademarks

Cy® is a registered trademark of GE Healthcare UK Ltd., UK.

Hellma® is a registered trademark of Hellma GmbH & Co. KG, Germany.

Eppendorf® and the Eppendorf logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Eppendorf BioSpectrometer®, Eppendorf SpectraZoom® and UVette® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Registered trademarks and protected trademarks are not marked in all cases with ® or ™ in this manual.

This product is manufactured under license to issued U.S. Patent No. 6,122,052.

Protected by U.S. Patent No. 8,464,171.

6136 900.054-04/062015

Inhaltsverzeichnis

1 Anwendungshinweise

1.1 Anwendung dieser Anleitung

- Lesen Sie diese Bedienungsanleitung vollständig, bevor Sie das Gerät das erste Mal in Betrieb nehmen. Beachten Sie ggf. die Gebrauchsanweisungen des Zubehörs.
- Diese Bedienungsanleitung ist Teil des Produkts. Bewahren Sie sie gut erreichbar auf.
- Fügen Sie diese Bedienungsanleitung bei Weitergabe des Geräts an Dritte bei.
- Die aktuelle Version der Bedienungsanleitung in den verfügbaren Sprachen finden Sie auf unserer Internetseite www.eppendorf.com.

1.2 Gefahrensymbole und Gefahrenstufen

Die Sicherheitshinweise in dieser Anleitung haben die folgenden Gefahrensymbole und Gefahrenstufen:

1.2.1 Gefahrensymbole

	Stromschlag		**Explosionsgefahr**
	Giftige Stoffe		**Gefahrenstelle**
	Sachschaden		

1.2.2 Gefahrenstufen

GEFAHR	*Wird* zu schweren Verletzungen oder zum Tod führen.
WARNUNG	*Kann* zu schweren Verletzungen oder zum Tod führen.
VORSICHT	Kann zu leichten bis mittelschweren Verletzungen führen.
ACHTUNG	Kann zu Sachschäden führen.

1.3 Darstellungskonventionen

Darstellung	Bedeutung
1. 2.	Handlungen in vorgegebener Reihenfolge
▸	Handlungen ohne vorgegebene Reihenfolge
•	Liste
sample oder **sample**	Taste drücken, um eine beschriebene Handlung durchzuführen.
Copy oder [Copy]	Softkey drücken, um eine beschriebene Handlung durchzuführen.
i	Zusätzliche Informationen

1.4 Abkürzungen

A
Absorbance – Extinktion

DNA
Deoxyribonucleic acid – Desoxyribonukleinsäure (DNS)

dsDNA
double stranded DNA – doppelsträngige DNS

Dye-Methoden
Methoden der Gruppe **Dye labels** für die Messung von farbstoffmarkierten Biomolekülen

FOI
Frequency of Incorporation: Maß für die Menge an Farbstoffmolekülen bezogen auf die Zahl der Nukleotide in farbstoffmarkierten Biomolekülen

M
mol/L (*molar*)

OD600
Optische Dichte bei der Wellenlänge 600 nm

RNA
Ribonucleic acid – Ribonukleinsäure (RNS)

ssDNA
single stranded DNA – einzelsträngige DNS

UV
Ultraviolette Strahlung

Vis
Visible light – sichtbares Licht

VK
Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert), in Prozent

2 Allgemeine Sicherheitshinweise

2.1 Bestimmungsgemäßer Gebrauch

Einsatzgebiet des BioSpectrometer kinetic ist das Forschungslabor in Molekularbiologie, Biochemie und Zellbiologie. Das BioSpectrometer kinetic ist ausschließlich für die Verwendung in Innenräumen bestimmt. Die länderspezifischen Sicherheitsanforderungen für den Betrieb elektrischer Geräte im Laborbereich müssen eingehalten werden.

Das BioSpectrometer kinetic dient zur photometrischen Konzentrationsbestimmung von Analyten in Flüssigkeiten und zur Aufnahme von Extinktions-Wellenlängen-Spektren in Küvetten.

Verwenden Sie ausschließlich Eppendorf-Zubehör oder von Eppendorf empfohlenes Zubehör.

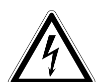
2.2 Anforderung an den Anwender

Gerät und Zubehör dürfen nur von ausgebildetem Fachpersonal bedient werden.

Lesen Sie vor der Anwendung die Bedienungsanleitung und die Gebrauchsanweisung des Zubehörs sorgfältig und machen Sie sich mit der Arbeitsweise des Geräts vertraut.

2.3 Gefährdungen bei bestimmungsgemäßem Gebrauch

2.3.1 Personenschaden



GEFAHR! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es vom Stromnetz, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- Führen Sie keine Sprühreinigung/Sprühdesinfektion am Gehäuse durch.
- Schließen Sie das Gerät nur innen und außen vollständig getrocknet wieder an das Stromnetz an.



GEFAHR! Explosionsgefahr.

- Betreiben Sie das Gerät nicht in Räumen, in denen mit explosionsgefährlichen Stoffen gearbeitet wird.
- Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine explosiven oder heftig reagierenden Stoffe.
- Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine Stoffe, die eine explosive Atmosphäre erzeugen können.



WARNUNG! Stromschlag durch Schäden am Gerät oder Netzkabel.

- Schalten Sie das Gerät nur ein, wenn Gerät und Netzkabel unbeschädigt sind.
- Nehmen Sie nur Geräte in Betrieb, die fachgerecht installiert oder instand gesetzt wurden.
- Trennen Sie das Gerät im Gefahrenfall von der Netzspannung durch Ziehen des Netzsteckers aus dem Gerät oder der Netzsteckdose oder mit Hilfe der vorgesehenen Trennvorrichtung (z.B. Notschalter im Labor).



WARNUNG! Schaden durch UV-Strahlung.
Mikroliterküvetten wie z.B. Hellma® TrayCell (oder Mikroliterküvetten ähnlicher Bauart) leiten die Strahlung der Lichtquelle innerhalb der Küvette um, sodass die Strahlung der Lichtquelle bei nicht geschlossenem Deckel nach oben austreten kann.

- Vergewissern Sie sich vor dem Start einer Messung, dass der Deckel auf der Mikroliterküvette aufliegt.



WARNUNG! Gesundheitsschädigung durch giftige, radioaktive oder aggressive Chemikalien sowie durch infektiöse Flüssigkeiten und pathogene Keime.

- Beachten Sie die nationalen Bestimmungen zum Umgang mit diesen Substanzen, die biologische Sicherheitsstufe Ihres Labors sowie die Sicherheitsdatenblätter und Gebrauchshinweise der Hersteller.
- Tragen Sie Ihre persönliche Schutzausrüstung.
- Entnehmen Sie umfassende Vorschriften zum Umgang mit Keimen oder biologischem Material der Risikogruppe II oder höher dem "Laboratory Biosafety Manual" (Quelle: World Health Organization, Laboratory Biosafety Manual, in der jeweils aktuell gültigen Fassung).



WARNUNG! Gesundheitsgefahr durch kontaminiertes Gerät und Zubehör.

- Dekontaminieren Sie Gerät und Zubehör, vor dem Lagern oder Versenden.



VORSICHT! Sicherheitsmängel durch falsche Zubehör- und Ersatzteile.
Zubehör- und Ersatzteile, die nicht von Eppendorf empfohlen sind, beeinträchtigen die Sicherheit, Funktion und Präzision des Geräts. Für Schäden, die durch nicht empfohlene Zubehör- und Ersatzteile oder unsachgemäßen Gebrauch verursacht werden, wird jede Gewährleistung und Haftung durch Eppendorf ausgeschlossen.

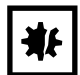
- Verwenden Sie ausschließlich von Eppendorf empfohlenes Zubehör und Original-Ersatzteile.

2.3.2 Geräteschaden



ACHTUNG! Schäden durch aggressive Chemikalien.

- Verwenden Sie am Gerät und Zubehör keine aggressiven Chemikalien wie z. B. starke und schwache Basen, starke Säuren, Aceton, Formaldehyd, halogenierte Kohlenwasserstoffe oder Phenol.
- Reinigen Sie das Gerät bei Verunreinigungen durch aggressive Chemikalien umgehend mit einem milden Reinigungsmittel.



ACHTUNG! Geräteschaden durch Begasung mit aggressiven Chemikalien.

- Führen Sie am Gerät keine Desinfektion durch Begasung durch.



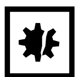
ACHTUNG! Korrosion durch aggressive Reinigungs- und Desinfektionsmittel.

- Verwenden Sie weder ätzende Reinigungsmittel noch aggressive Lösungs- oder schleifende Poliermittel.
- Inkubieren Sie das Zubehör nicht längere Zeit in aggressiven Reinigungs- oder Desinfektionsmitteln.



ACHTUNG! Schäden und Fehlmessungen durch Kondenswasser.
Bei hoher Luftfeuchtigkeit kann sich an einer Küvette mit deutlich geringerer Temperatur als Umgebungstemperatur Kondenswasser bilden. Das Kondenswasser kann Schäden an der Optik sowie falsche Messergebnisse verursachen.

- Setzen Sie keine Küvetten in den Küvettenschacht ein, deren Temperatur deutlich unter der Umgebungstemperatur liegt.
- Temperieren Sie die Küvette nicht dauerhaft deutlich unterhalb der Umgebungstemperatur.
- Beachten Sie gegebenfalls den vorliegenden Taupunkt.



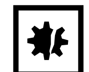
ACHTUNG! Schäden an elektronischen Bauteilen durch Kondensatbildung.
Nach dem Transport des Geräts von einer kühlen in eine wärmere Umgebung kann sich im Gerät Kondensat bilden.

- Warten Sie nach dem Aufstellen des Geräts mindestens 3 h. Schließen Sie das Gerät erst danach an das Stromnetz an.



ACHTUNG! Beeinträchtigung der Funktion durch mechanische Schäden.

- Stellen Sie nach einer mechanischen Beschädigung des Gerätes durch eine Überprüfung sicher, dass die Mess- und Auswertefunktionen des Gerätes korrekt ablaufen.



ACHTUNG! Schäden durch Überhitzung.

- Stellen Sie das Gerät nicht in der Nähe von Wärmequellen (z.B. Heizung, Trockenschrank) auf.
- Setzen Sie das Gerät keiner direkten Sonneneinstrahlung aus.
- Gewährleisten Sie eine ungehinderte Luftzirkulation. Halten Sie um alle Lüftungsschlitze einen Abstand von mindestens 5 cm frei.



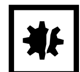
ACHTUNG! Sachschäden durch falsche Anwendung.

- Setzen Sie das Produkt nur für den in der Bedienungsanleitung beschriebenen bestimmungsgemäßen Gebrauch ein.
- Achten Sie auf eine ausreichende Materialbeständigkeit bei der Anwendung von chemischen Substanzen.
- Wenden Sie sich in Zweifelsfällen an den Hersteller dieses Produktes.



ACHTUNG! Schäden durch unsachgemäße Verpackung.
Die Eppendorf AG haftet nicht für Schäden durch unsachgemäße Verpackung.

- Lagern und transportieren Sie das Gerät nur in der Originalverpackung.



ACHTUNG! Schäden durch unsachgemäße Reinigung des Küvettenschachts.

- Reinigen Sie den Küvettenschacht nur mit einem feuchten Wattestäbchen (siehe *Reinigung auf S. 79*).
- Lassen Sie keine Flüssigkeit in den Küvettenschacht gelangen.
- Fassen Sie nicht mit dem Finger in den Küvettenschacht.

2.4 Hinweise zur Produkthaftung

In den folgenden Fällen kann der vorgesehene Schutz des Geräts beeinträchtigt sein. Die Haftung für entstehende Sach- und Personenschäden geht dann auf den Betreiber über:

- Das Gerät wird nicht entsprechend der Bedienungsanleitung benutzt.
- Das Gerät wird außerhalb des bestimmungsgemäßen Gebrauchs eingesetzt.
- Das Gerät wird mit Zubehör oder Verbrauchsartikeln verwendet, die nicht von Eppendorf empfohlen werden.
- Das Gerät wird von Personen, die nicht von Eppendorf autorisiert wurden, gewartet oder instand gesetzt.
- Am Gerät werden vom Anwender unautorisiert Änderungen vorgenommen.

2.5 Sicherheitshinweise am Gerät

Darstellung	Bedeutung	Ort
	Gefahrenstelle ▸ Beachten Sie die Bedienungsanleitung.	Rückseite des Geräts
Gerät nach dem Öffnen justieren! Adjust device after opening!	Wenn das Gerät geöffnet wird, muss es neu justiert werden. ▸ Gerät nicht öffnen.	Unterseite des Geräts

3 Produktbeschreibung

3.1 Gesamtillustration

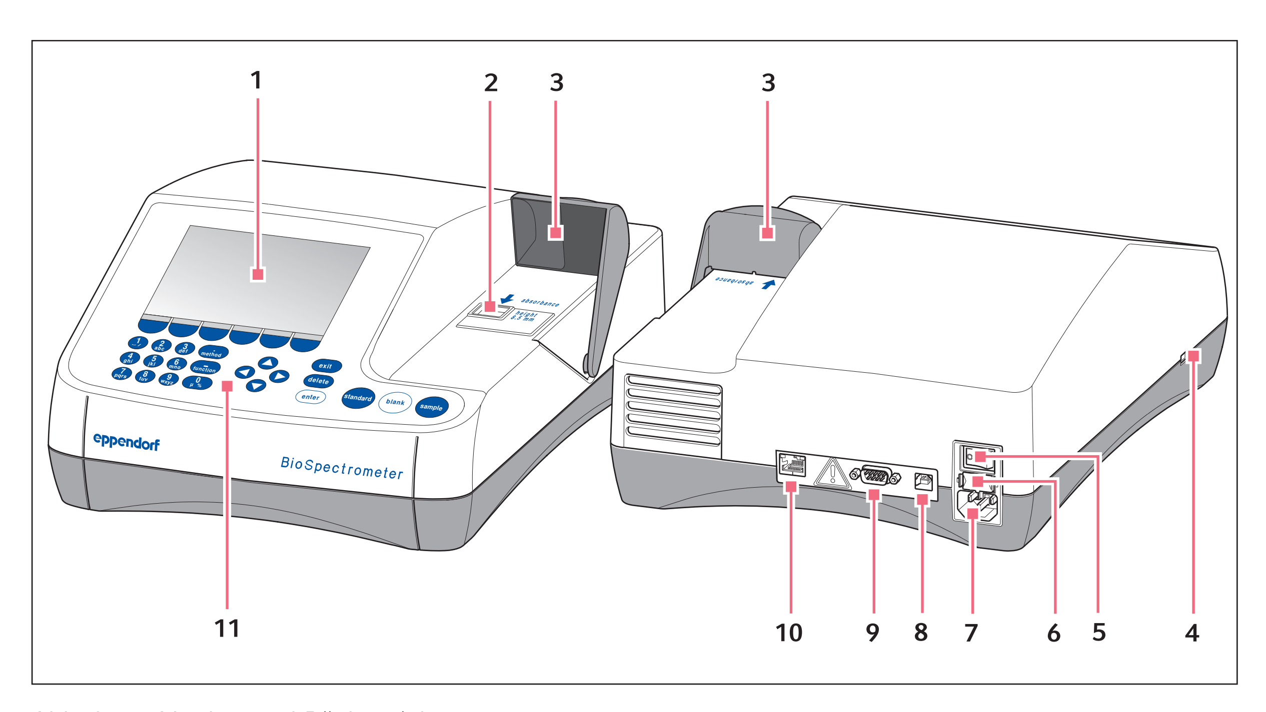


Abb. 3-1: Vorder- und Rückansicht

1	**Display**	7	**Netzanschluss**
2	**Küvettenschacht**	8	**USB-Anschluss für PC**
3	**Küvettenschachtabdeckung**	9	**Anschluss RS-232-Drucker**
4	**USB-Anschluss für USB-Stick und Drucker**	10	**Anschlussbuchse Ethernet**
5	**Netzschalter**	11	**Bedienelemente**
6	**Sicherungshalter**		

Das Typenschild befindet an der Unterseite des Geräts links hinten.

3.2 Lieferumfang

Anzahl	Beschreibung
1	**BioSpectrometer kinetic**
1	**Netzkabel**
4	**4 UVetten** Original Eppendorf Kunststoffküvette, einzeln verpackt, PCR clean, Protein-free
1	**Bedienungsanleitung, mehrsprachig**

3.3 Produkteigenschaften

Das BioSpectrometer kinetic ist ein UV-Vis-Spektralphotometer für die Messung von Flüssigkeiten in Küvetten im Wellenlängenbereich von 200 nm bis 830 nm. Es ist für den Einsatz im molekularbiologischen, biotechnologischen, biochemischen und zellbiologischen Bereich in Entwicklung und Forschung vorgesehen. Sie können Glasküvetten und Kunststoffküvetten im Volumenbereich von 1 µL bis 3000 µL benutzen.

3.3.1 Methoden

Zahlreiche Methoden für die Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren, Proteinen und Farbstoff-markierten Nukleinsäuren und Proteinen sowie die Methode **OD 600** für die Bestimmung der Bakteriendichte durch Trübungsmessung sind bereits vorprogrammiert. Weiterhin sind Methoden-Templates für unterschiedliche Mess- und Auswerteverfahren (Ein- und Mehrwellenlängenmessungen, Spektrenaufnahmen, Kinetikverfahren, Auswertungen mit Faktor, Standard und Standardkurve) vorprogrammiert. Eigene Methoden können auf Basis der vorprogrammierten Methoden und Templates erstellt werden. Mit den Templates der Methodengruppe ***Absorbance*** können Sie schnell Extinktionen oder Spektren ohne weitere Auswertung messen.

3.3.2 Bedienung

Die vorprogrammierten Methoden und Templates sind in übersichtlichen Gruppen zusammengefasst, aus denen Sie schnell Ihre gewünschte Methode auswählen können. Nach Methodenaufruf werden Sie in übersichtlichen Schritten durch den Messablauf geführt. Eine Hilfebox in der Anzeige gibt Ihnen bei Bedarf Hinweise. Die 3 runden Messtasten (**standard**, **blank**, **sample**) ermöglichen den schnellen, direkten Start einer Messung.

3.3.3 Ergebnisausgabe

Das BioSpectrometer kinetic gibt die Ergebnisse über die Geräteanzeige oder über einen bei Eppendorf erhältlichen Drucker aus. Über den USB-Anschluss können Sie Ergebnisdaten aus dem Gerät auf einen USB-Stick, einen Drucker oder direkt auf einen PC übertragen. Wenn das Gerät mit einem Netzwerk verbunden ist, können die Ergebnisse auf einem Netzwerkdrucker ausgedruckt oder per E-Mail verschickt werden. Es ist nicht möglich die Ergebnisse auf einem Netzlaufwerk zu speichern.

3.3.4 Selbsttest des Geräts

Direkt nach dem Einschalten überprüft das Gerät selbsttätig die Funktion der Spektrometereinheit und der Temperiereinheit. Um das Gerät umfassender zu prüfen, rufen Sie die Funktion **Device calibration** auf (siehe *Selbsttest des Geräts auf S. 86)*.

4 Installation

4.1 Installation vorbereiten

- Heben Sie den Transportkarton und das Verpackungsmaterial für einen späteren sicheren Transport oder für eine Lagerung auf.
- Kontrollieren Sie anhand der Angaben zum Lieferumfang die Vollständigkeit der Lieferung (siehe *Lieferumfang auf S. 17)*.
- Prüfen Sie alle Teile auf eventuelle Transportbeschädigungen.

4.2 Standort wählen

Wählen Sie den Standort für das BioSpectrometer kinetic nach folgenden Kriterien:

- 2 Steckdosen mit Schutzleiter für das BioSpectrometer kinetic und für den Drucker.
- Fester Labortisch mit waagerechter Arbeitsplatte.
  Platzbedarf des Gerätes: 50 cm (mit Drucker: 75 cm) Breite, 50 cm Tiefe.
- Temperatur: 15 °C bis 35 °C.
- Vermeiden Sie Temperaturschwankungen (z. B. durch geöffnete Fenster).
- Vermeiden Sie direktes Sonnenlicht.
- Luftfeuchtigkeit: 25 % bis 70 % relative Feuchtigkeit.



Achten Sie darauf, dass keine Gegenstände unter dem Gerät liegen (z. B. lose Blätter, Hefte), die die Luftzufuhr behindern können.

4.3 Gerät an das Netz anschließen

1. Stellen Sie das BioSpectrometer kinetic auf eine geeignete Arbeitsfläche.
2. Überzeugen Sie sich, dass Netzspannung und Netzfrequenz mit den Angaben auf dem Typenschild übereinstimmen.
3. Verbinden Sie das Gerät mit dem Stromnetz und schalten Sie es mit dem Netzschalter ein.
4. Entfernen Sie die Schutzfolie vom Display.

4.4 Gerät mit einem Netzwerk verbinden



Die Verbindung des Geräts mit einem Netzwerk ist optional. Sie können das Gerät auch ohne Netzwerkverbindung betreiben.
Informationen zu Netzwerkeinstellungen (siehe *Device Settings auf S. 74)*

Voraussetzung

Ethernet-Kabel (RJ45)

1. Verbinden Sie das Ethernet-Kabel mit der Anschlussbuchse des Netzwerks.
2. Verbinden Sie das Ethernet-Kabel mit der Anschlussbuchse Ethernet **10** (siehe *Gesamtillustration auf S. 17)*.



Netzwerkdrucker
Ein Netzwerkdrucker wird unter folgenden Voraussetzungen automatisch vom Gerät erkannt:
- Drucker befindet sich im gleichen Netzwerksegment wie das Gerät.
- Drucker unterstützt das Zeroconf-Protokoll.
- Drucker ist PostScript-fähig.

4.5 Drucker am USB-Anschluss anschließen

4.5.1 Thermodrucker DPU-S445

Voraussetzung

Auf dem Gerät ist die Software-Version 3.4.4.0 oder höher installiert.

In den Druckereinstellungen ist der Thermodrucker DPU-S445 ausgewählt (siehe *Device Settings auf S. 74)*.

Schließen Sie den Thermodrucker DPU-S445 an den USB-Anschluss für Drucker an.

1. Verbinden Sie das Druckerkabel mit dem USB-Anschluss für Drucker **4** (siehe *Gesamtillustration auf S. 17)*.
2. Verbinden Sie das Druckerkabel mit dem Drucker.
3. Schließen Sie den Drucker über das mitgelieferte Steckernetzteil und Netzkabel (Zubehör des Druckers) an das Stromnetz an und schalten Sie ihn ein.

   Hinweise zum Drucker finden Sie in der Bedienungsanleitung des Druckers.

4.6 PC oder USB-Stick für Datenexport anschließen

Sie können einen USB-Stick, **FAT-32-formatiert**, an den USB-Anschluss **4** anschließen (siehe *Gesamtillustration auf S. 17)*.

Alternativ können Sie das Gerät für den Datenexport über ein USB-Kabel direkt mit einem PC verbinden:

Voraussetzung
- PC mit Windows, Version XP, SP2 oder höhere Version.
- USB-Kabel mit je einem Stecker Typ A und Typ B.

▸ Verbinden Sie das Gerät mit dem PC über das USB-Kabel am USB-Anschluss **8** (siehe *Gesamtillustration auf S. 17)*.



- Sie benötigen keine spezielle PC-Software für die Datenübertragung: Übertragene Datenpakete werden vom PC wie ein USB-Stick als Wechseldatenträger erkannt. Um die Daten sichtbar zu machen, müssen Sie das angemeldete Datenpaket nur öffnen.
- Die Übertragung von Daten auf den USB-Stick oder an den PC starten Sie nach Abschluss der Messreihe im Methodenschritt **print & export** (siehe *print & export auf S. 64)*.

5 Bedienung

5.1 Übersicht Bedienelemente

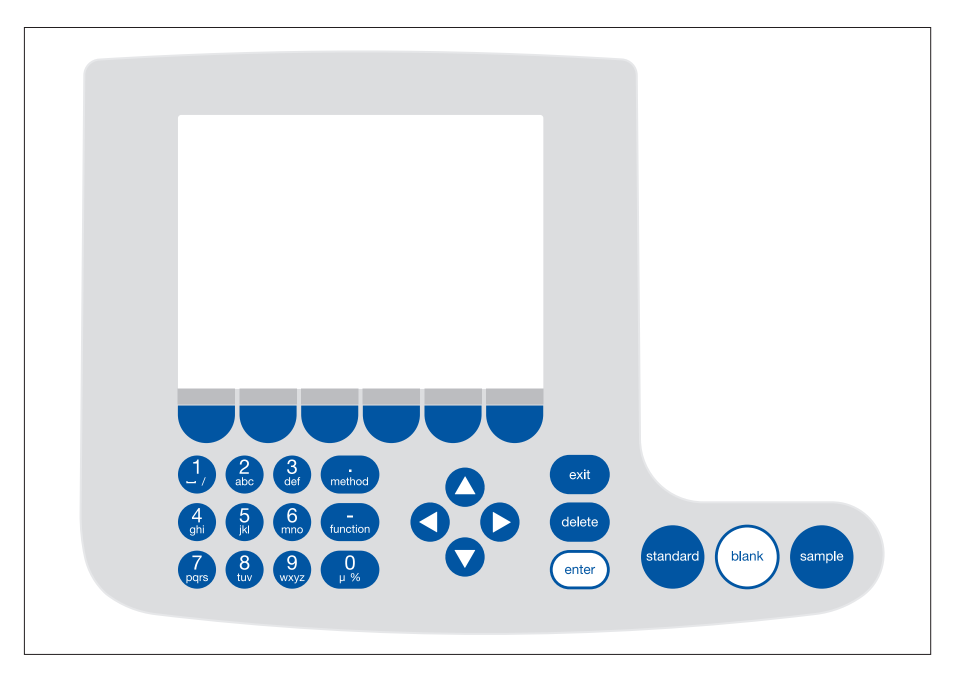
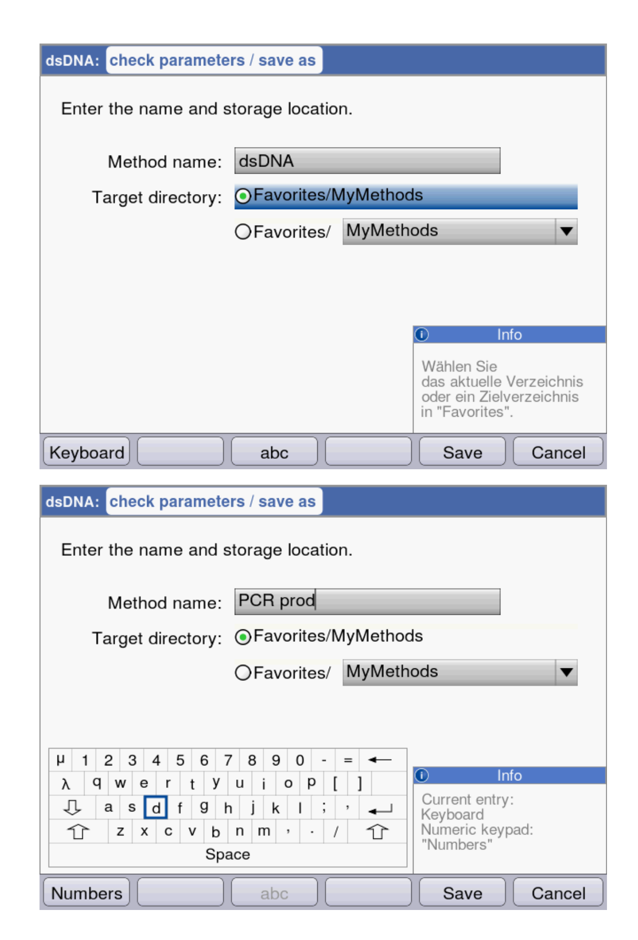


Abb. 5-1: Bedienelemente des BioSpectrometer kinetic

Taste	Funktion
1 ⎵ / · 2 abc · 3 def · . method 4 ghi · 5 jkl · 6 mno · - function 7 pqrs · 8 tuv · 9 wxyz · 0 µ %	Tastenblock: Zahlen und Text eingeben. Tasten **1** bis **9** sowie **0**: Bei Texteingabe können Sie neben Ziffern auch Buchstaben und Sonderzeichen durch mehrmaliges Drücken der Taste eingeben. Alternativ wechseln Sie mit [Keyboard] zu einer eingeblendeten Tastatur.
. method - function	Außerhalb von Eingabefeldern: Methodenauswahl aufrufen. Außerhalb von Eingabefeldern: Funktionsauswahl aufrufen.
Edit	Softkey: Funktionen anwählen. Die Belegung der Taste wechselt mit dem Software-Dialog. Die aktuelle Funktion wird im Display direkt über der Taste angezeigt.
▲ ◀ ▶ ▼	Cursor nach links, rechts, oben, unten bewegen. • Navigieren zwischen Eingabefeldern. • Cursor-Tasten ◀ und ▶ innerhalb eines Eingabefeldes: Innerhalb der Zeichenfolge navigieren. • Tasten ▲ und ▼ in einer Ergebnisanzeige: Zwischen den Probenergebnissen der Messreihe navigieren. • Tasten ◀ und ▶ innerhalb eines Graphen: Auf der x-Achse des Graphen navigieren, um z.B. in einem Scan die Wellenlängen-abhängigen Extinktionswerte anzuzeigen. Tasten ▲ und ▼ in einem Extinktions-Wellenlängen-Spektrum: Bildausschnitt verändern (Verfahren **SpectraZoom**) (siehe Tab. 6-3 auf S. 60).
exit delete enter	Aktuelle Auswahl in die nächsthöhere Ebene verlassen. Eingabe löschen. Innerhalb einer Zeichenfolge wird das Zeichen links vom Cursor gelöscht • Ausgewählte Methode oder Funktion aufrufen. • Auswahlliste öffnen. • Eingabe oder Auswahl bestätigen.
standard blank sample	Standardmessung starten. Leerwertmessung starten. Probenmessung starten.

5.1.1 Text eingeben

Texte können Sie bei der Vergabe von Methodennamen und Ergebniseinheiten eingeben. Einschränkung: Für Methodennamen sind nur Ziffern und Buchstaben sowie der Unterstrich "_" erlaubt.



Eingabe über den Tastenblock:

Mit den Cursor-Tasten ◀ und ▶ navigieren Sie im Eingabefeld und können einzelne Positionen im Namen verändern.

Softkeys:

- [Keyboard]: Tastatur einblenden.
- [abc]: Wechsel zwischen Groß- und Kleinbuchstaben bei Eingabe über den Tastenblock.
- [Save]: Eingegebenen Text speichern.
- [Cancel]: Texteingabe abbrechen.

Eingabe über eingeblendete Tastatur:

Mit den Cursor-Tasten wählen Sie die eingeblendeten Zeichen aus und bestätigen jeweils mit der Taste **enter**. Wie bei einer PC-Tastatur können Sie mit der "Shift"- bzw. der Feststelltaste für die nächstfolgende bzw. für alle folgenden Eingaben zwischen Groß- und Kleinschreibung wechseln.

Softkeys:

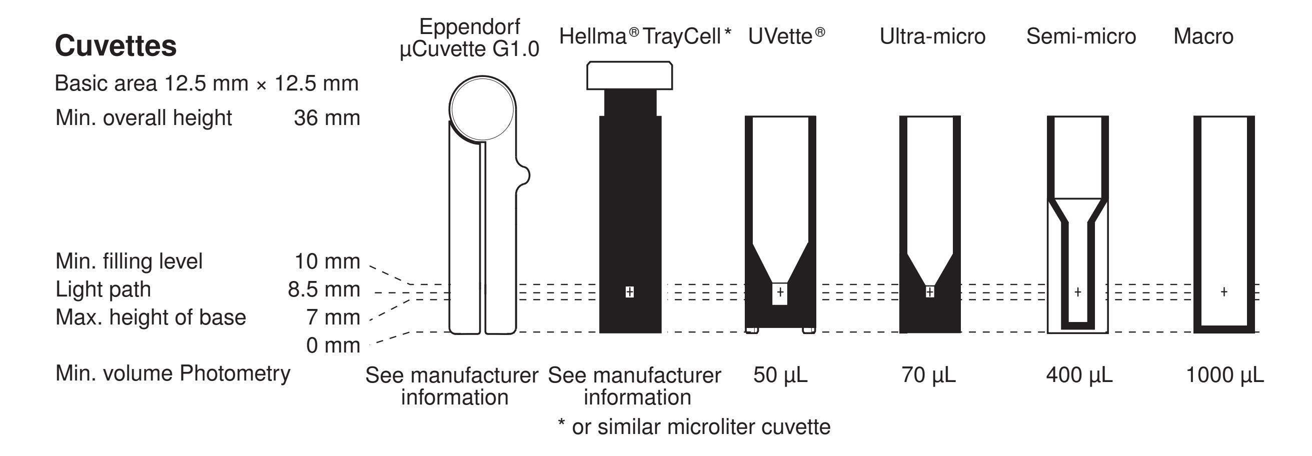
- [Numbers]: Zur Eingabe über den Tastenblock wechseln.
- [Save]: Eingegebenen Text speichern.
- [Cancel]: Texteingabe abbrechen.

5.2 Küvette einsetzen

In die Küvettenaufnahme können Sie handelsübliche Rechteckküvetten aus Glas oder Kunststoff einsetzen:

- Außenmaße: 12,5 mm × 12,5 mm
- Lichtweghöhe: 8,5 mm über dem Küvettenboden
- Gesamthöhe: mindestens 36 mm

Die Küvetten müssen bei der jeweiligen Messwellenlänge optisch transparent sein. Für Messungen im UV-Bereich bietet Eppendorf mit der UVette eine Kunststoffküvette an, die bei Wellenlängen ab 220 nm transparent und damit auch für die Messung von Nukleinsäuren geeignet ist.



Voraussetzung
- Küvette ist frei von Verschmutzung durch Staub oder Fingerabdrücke und frei von Kratzern.
- Küvettenschacht ist frei von Partikeln, Staub und Flüssigkeit.
- Messvolumen in der Küvette ist ausreichend. Minimales Messvolumen beachten.
- Messlösung ist frei von Partikeln und Blasen.



Die Richtung des Lichtwegs ist mit einem Pfeil auf dem Gehäuse gekennzeichnet.

1. Positionieren Sie die Küvette so, dass das optische Fenster der Küvette in Richtung des Lichtwegs zeigt.
2. Drücken Sie die Küvette beim Einsetzen gegen einen leichten Widerstand ganz nach unten.

5.3 Übersicht über den Messablauf

5.3.1 Messung vorbereiten

1. Schalten Sie das Gerät und gegebenenfalls den Drucker ein.

   Das Gerät führt einen Selbsttest durch (Dauer ca. 1 Minute) und zeigt die Methodenauswahl an.

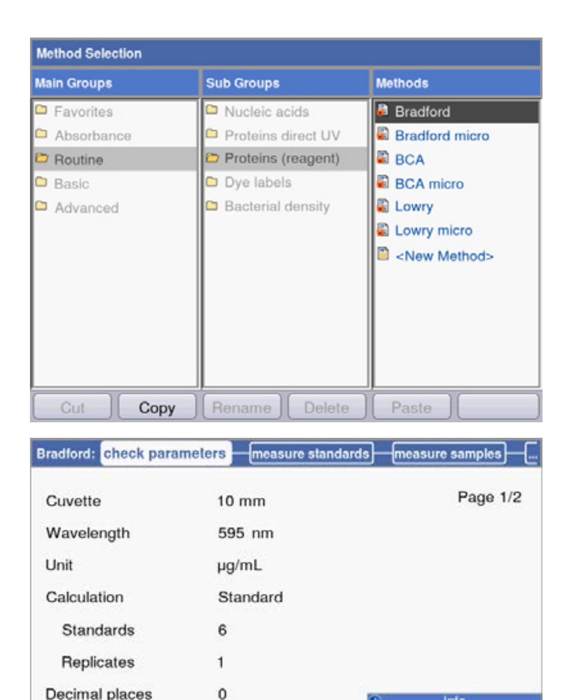
2. Stellen Sie die Küvetten für die Messungen bereit (siehe *Küvette einsetzen auf S. 26*).
3. Stellen Sie die Messlösungen für die Messungen der Leerwerte, ggf. der Standards und der Proben bereit.
4. Öffnen Sie die Abdeckung des Küvettenschachts. Während der Messungen kann die Abdeckung geöffnet bleiben.



Messlösungen für Standards und Proben mit geringeren Extinktionen als 0,05 A sollten nicht eingesetzt werden. Die Nachweisgrenze des Geräts liegt zwar wesentlich niedriger, jedoch ist der Einfluss von Störungen aus den Messlösungen (z.B. Partikel, Blasen, Trübungen) auf die Zuverlässigkeit des Ergebnisses bei diesen geringen Extinktionen sehr groß. Weitere Informationen wie z. B. den Userguide Nr. 013 finden Sie auf unserer Internetseite www.eppendorf.com.

5.3.2 Messablauf

5.3.2.1 Methode auswählen

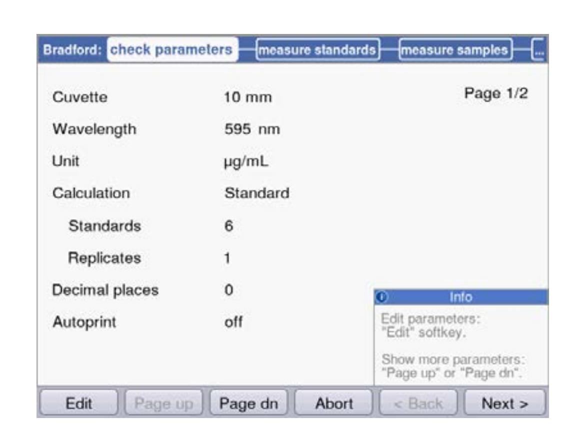


▸ Wählen Sie mit den Cursor-Tasten die gewünschte Methode und rufen Sie die Methode mit der Taste **enter** auf.

Eine Übersicht und detaillierte Beschreibung der Methoden finden sie im nächsten Kapitel (siehe *Methoden auf S. 35*).

Wizard: Der Wizard am oberen Rand der Anzeige führt Sie schrittweise durch den Methodenablauf.
Hilfebox: Bei jedem Schritt des Ablaufs erhalten Sie unten rechts in der Anzeige Hilfetexte.
Softkeys: Mit den Softkeys [< Back] und [Next >] bewegen Sie sich im Wizard einen Methodenschritt vor oder zurück.

5.3.2.2 Parameter prüfen

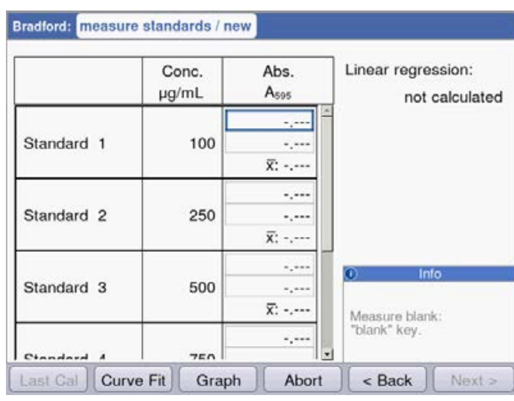


- Überprüfen Sie die Parametereinstellung. Mit den Softkeys [Page dn] und [Page up] rufen Sie die Seiten der Parameterliste auf. Mit [Edit] ändern und speichern Sie Parameter.

5.3.2.3 Blank und Standards messen

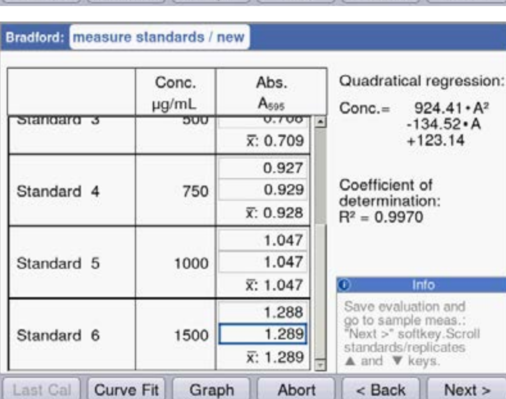


Bei Auswertung ohne Standards (z.B. DNA-Messungen) entfällt dieser Methodenschritt.



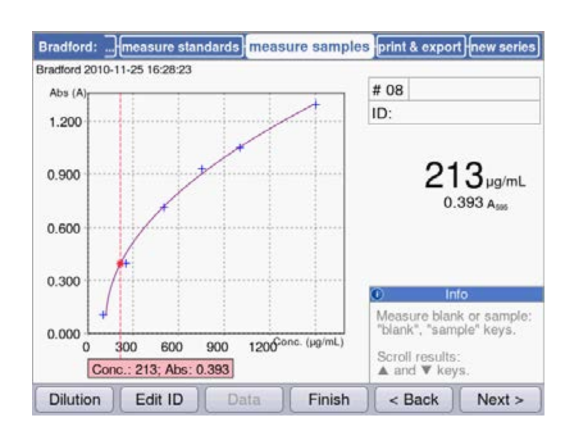
1. Messen Sie zunächst einen Leerwert (Taste **blank**).
2. Messen Sie der Reihe nach alle Standards (Taste **standard**).

In der Anzeige ist jeweils der nächste zu messende Standard markiert. Mit den Softkeys [Graph] bzw. [Table] können Sie die Ergebnisansicht wechseln.



- Mit [Next] akzeptieren Sie die aus den Standardergebnissen errechnete Auswertung.

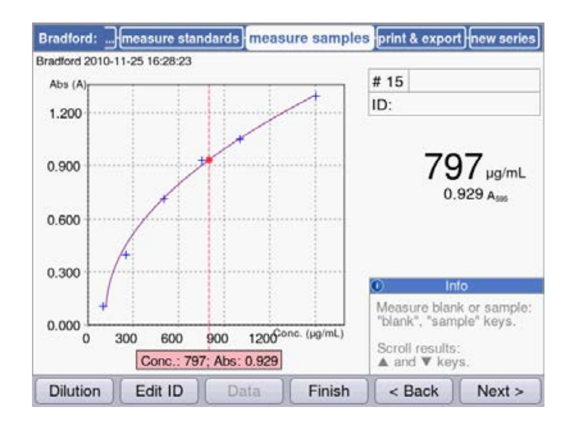
5.3.2.4 Proben messen



- Mit der Taste **sample** messen Sie der Reihe nach Ihre Proben.

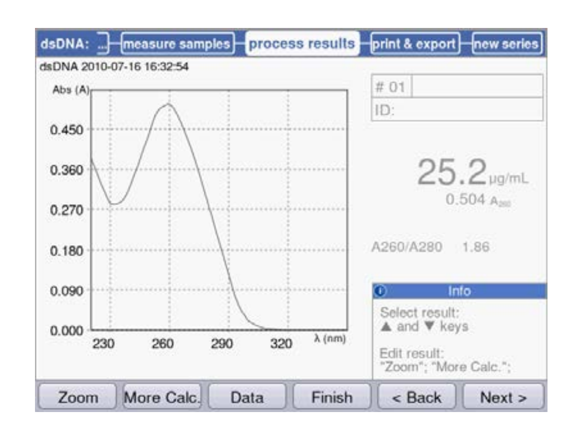
Leerwertergebnisse bleiben für eine Messreihe gespeichert. Eine neue Leerwertmessung ist aber jederzeit möglich.(In der hier gezeigten Abbildung eines Messablaufs mit Auswertung über Standardkurve wird zusätzlich zum Probenergebnis der Graph der Standardauswertung angezeigt.)

5.3.2.5 Methode abschließen



1. Drücken Sie [Finish], um die Messreihe zu beenden und zur Methodenauswahl zurückzukehren.
2. Schalten Sie nach Abschluss aller Messungen das Gerät aus und schließen Sie die Küvettenschachtabdeckung, um den Küvettenschacht vor Verschmutzung zu schützen.

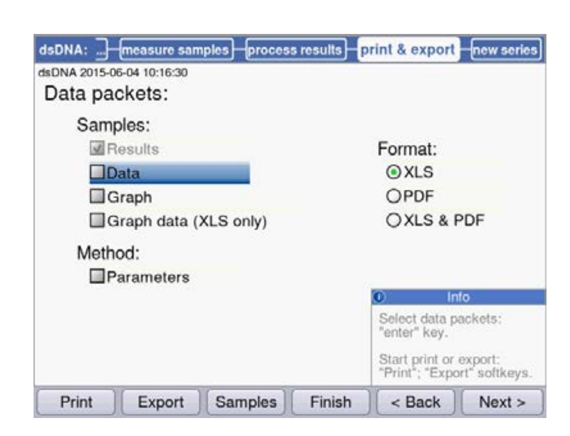
5.3.2.6 Optional: Ergebnisse nachbearbeiten



Bei einigen Methoden können Sie im Methodenschritt **process results** Ergebnisse nachbearbeiten. Zum Beispiel können Sie in Spektren die Zoom-Funktion **SpectraZoom** nutzen.

- Wählen Sie mit den Cursor-Tasten ▲ und ▼ gezielt Ergebnisse der Messreihe für die Nachbearbeitung aus.

5.3.2.7 Drucken und exportieren



1. Stellen Sie Datenpakete für alle oder für ausgewählte Proben zusammen.
2. Drucken Sie die Daten aus, speichern Sie sie auf einem USB-Stick, übertragen Sie sie über ein USB-Kabel an einen PC oder exportieren Sie sie per E-Mail.

5.3.3 Wichtige Hinweise für die Messungen



Beachten Sie bei jeder Messung:

- Bei Kunststoffküvetten: Wie viele Messungen nacheinander können in der Küvette zuverlässig durchgeführt werden?
- Messen Sie vor Proben- oder Standardmessungen den Leerwert der Küvette, um neben dem Reagenzleerwert auch den Küvettenleerwert zu kompensieren.
- Leerwertergebnisse bleiben für eine Messreihe gespeichert, eine neue Leerwertmessung ist aber jederzeit auch zwischen Probenmessungen möglich.
- Die angezeigten Extinktionswerte entsprechen immer den direkt gemessenen Werten. Verdünnungs- oder Küvettenfaktor sowie Background-Extinktionen werden erst für die anschließende Ergebnisberechnung einbezogen (siehe *Extinktionswerte auf S. 105)*.
- Die Dauer vom Start einer Messung bis zur Anzeige eines Messergebnisses beträgt typischerweise ca. 2 bis 3 Sekunden. Wenn (bei hohen Extinktionswerten) wenig Licht auf den Empfänger gelangt, kann die Messzeit automatisch auf bis zu 9 Sekunden verlängert werden, um die Präzision der Messung zu erhöhen. Bei Kinetikmessungen wird diese automatische Messzeitverlängerung nicht angewendet, um Konflikte mit der vorprogrammierten Intervallzeit für die Messpunktaufnahme zu vermeiden.
- Achten Sie darauf, dass die gemessenen Extinktionswerte die Obergrenze des photometrischen Messbereichs nicht überschreiten. Verwerfen Sie in diesem Fall das Messergebnis. Die Obergrenze des photometrischen Messbereichs ist nicht nur von der Wellenlänge (siehe *Photometrische Eigenschaften auf S. 102)*, sondern auch vom Küvettenleerwert abhängig. Ultramikroküvetten mit kleiner Blende wie **TrayCell** (Hellma) können einen Küvettenleerwert bis ca. A = 1 besitzen. Um diesen Betrag wird der verfügbare photometrische Messbereich reduziert. Den Küvettenleerwert können Sie abschätzen, wenn Sie die mit demineralisiertem Wasser gefüllte Küvette als Probe gegen den leeren Küvettenschacht als Blank messen. Der Küvettenleerwert der Eppendorf µCuvette G1.0 ist zu vernachlässigen (nahe A = 0).
- Entfernen Sie nach der Messung die Messlösung vollständig, bevor Sie die nächste Messlösung einfüllen, um Verschleppung zu minimieren. Wenn aufgrund von hohen Konzentrationsunterschieden Verschleppung von einer Probe zur nächsten Probe zu erwarten ist, spülen Sie die Küvette zwischen den Messungen.
- Bei Temperaturunterschieden zwischen Lampe und Umgebung kann photometrische Drift auftreten. Bringen Sie daher ein Gerät, das aus einer kälteren Umgebung kommt, zunächst auf Umgebungstemperatur.
  Vermeiden Sie schnelle Temperaturwechsel. Führen Sie bei längeren Messreihen oder bei Messungen nach einem längeren Zeitraum eine neue Leerwertmessung durch.

5.3.4 Hinweise zum Arbeiten mit Küvettentemperierung

Die Temperierung wird über eine Messung am Küvettenhalter geregelt. Die Temperatur in der Messlösung kann von der Temperatur am Küvettenhalter abweichen.

Das Ausmaß der Abweichung ist abhängig vom Messvolumen, vom Küvettenmaterial, von der Form der Küvetten und von der Umgebungstemperatur. Auch die Temperiergeschwindigkeit ist von diesen Faktoren abhängig. Küvetten aus Kunststoff werden langsamer temperiert als Küvetten aus Glas. Die direkt an der Wand des Küvettenhalters anliegende Fläche der Küvette sollte für eine schnelle Temperierung möglichst groß sein. Daher werden Kunststoff-Halbmikroküvetten sowie z. B. die UVette nur langsam temperiert.

Als Hilfestellung werden in den folgenden Tabellen typische bei Eppendorf gemessene Werte für die Temperierung in geschlossenen Küvetten bei geschlossener Küvettenschachtabdeckung angegeben. Die Temperatur wurde in der Messlösung gemessen; die Umgebungstemperatur betrug 24,5 °C.

Tab. 5-1: Einzustellende Temperatur für die Temperierung einer Messlösung

Küvettentyp/Messvolumen	Zieltemperatur	In den Methodenparametern einzustellende Temperatur
Quarzglas-Makroküvette 1 500 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Kunststoff-Makroküvette 1 000 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Quarzglas-Halbmikroküvette 500 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Quarzglas-Ultramikroküvette 60 µL	25 °C	25 °C
	30 °C	30,3 °C
	37 °C	37,6 °C

Tab. 5-2: Dauer für die Temperierung einer Messlösung

Küvettentyp/Messvolumen	**Ausgangs- und Zieltemperatur**	**Temperierdauer**
Quarzglas-Makroküvette 1 500 µL	25 °C → 37 °C	ca. 7 min
	37 °C → 25 °C	ca. 11 min
	25 °C → 30 °C	ca. 7 min
Kunststoff-Makroküvette 1 000 µL	25 °C → 37 °C	ca. 13 min
	37 °C → 25 °C	ca. 19 min
Quarzglas-Halbmikroküvette 500 µL	25 °C → 37 °C	ca. 7 min
	37 °C → 25 °C	ca. 12 min
Quarzglas-Ultramikroküvette 60 µL	25 °C → 37 °C	ca. 7 min
	37 °C → 25 °C	ca. 9 min
	25 °C → 30 °C	ca. 5 min

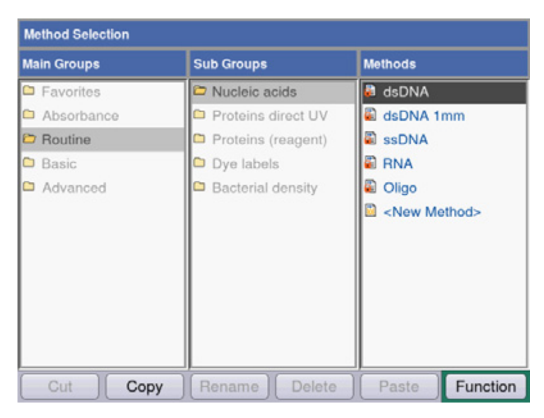


- Für eine effiziente Temperierung sollte das Volumen der Messlösung in der Küvette nicht über den Rand des Küvettenhalters hinausragen.
- Zur Beschleunigung des Messablaufs bei der Messung von Serien können Sie Küvetten mit Reagenz in einem Thermostaten außerhalb des BioSpectrometers vortemperieren, bevor Sie die Küvette in den Küvettenhalter einsetzen und Probe zugeben.
- Beachten Sie beim Wechsel von einer Methode mit Temperierung auf eine Methode ohne Temperierung, dass die Temperatur des Küvettenhalters langsam zurück in Richtung Raumtemperatur driftet. Die Ergebnisse der Methode ohne Temperierung können davon beeinflusst werden.

6 Methoden

6.1 Methode auswählen

Methoden und Methoden-Templates sind bereits mit Auslieferung vorprogrammiert. Die Methoden sind in Haupt- und Untergruppen geordnet.



Schreibgeschützte Methoden		Die wichtigsten Methoden der Molekularbiologie. Sie können die Parameter zwar verändern, dann aber nur unter neuem Methodennamen abspeichern.
Nicht schreibgeschützte Methoden		Sie können die Parameter beliebig verändern und nach Speichern direkt mit der Messung beginnen.
Templates für neue Methoden		Jede Methodengruppe enthält ein Template, das zur Erleichterung der Programmierung neuer Methoden bereits mit kompletten Parametersätzen vorprogrammiert ist. Die Parameter können beliebig verändert und unter neuem Namen abgespeichert werden.

Um eine Methode aufzurufen, wählen Sie mit den Cursor-Tasten zunächst die Hauptgruppe, Untergruppe und die Methode aus. Bestätigen Sie jeweils mit **enter**.

Tab. 6-1: Photometrische Methoden

Absorbance	Methoden für schnelle, einfache Extinktionsmessungen ohne weitere Auswertungen.
Routine	Häufig genutzte Methoden der Molekularbiologie. Die Methoden sind fest vorprogrammiert. Eine Änderung von Parametern ist aber mit Speichern unter neuem Namen möglich.
Basic	Methoden für die Auswertung von Extinktionsmessungen mit Faktor, Standard oder Standardkurve/-gerade. Methoden-Template für die Messung und Auswertung von Kinetiken.
Advanced	Methoden für die Auswertung von Zwei-Wellenlängen-Messverfahren sowie für Kinetiken mit anspruchsvolleren Auswerteoptionen.
Favorites	In ***Favorites*** können Sie mit **<New Folder>** eigene Ordner einrichten und Ihre häufig benutzten Methoden in diese Ordner kopieren, um schnell auf diese Methoden zugreifen zu können.

In allen Ordnern können Sie mit **<New Method>** neue Methoden erstellen.

In ***Favorites*** können Sie eigene Ordner erstellen (z. B. für personenorientierte Zuordnung), umbenennen und löschen.

Tab. 6-2: Softkeys in der Methodenauswahl

[Cut] und [Paste]	Methoden ausschneiden und einfügen.
[Copy] und [Paste]	Methoden kopieren und einfügen.
[Delete]	Methoden löschen.
[Rename]	Methoden umbenennen.

Kopierte oder ausgeschnittene Methoden können Sie entweder in einen anderen Ordner unter ***Favorites*** oder unter neuem Namen in den ursprünglichen Ordner einfügen. Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten in die Spalte **Methods** des gewünschten Ordners und drücken Sie [paste] zum Einfügen der Methode.

6.2 Methodenbeschreibung Photometrie

In diesem Kapitel werden die vorprogrammierten Methoden und Methoden-Templates beschrieben.

6.2.1 Methodengruppe *Absorbance*

Single λ
- Extinktionsmessung bei einer Wellenlänge.
- Keine nachgeschaltete Auswertung.

Single λ - continuous
- Wiederholte Extinktionsmessung bei einer Wellenlänge.
- Parametereingabe zur Temperierung zwischen 20 und 42 °C ist möglich (Voreinstellung: 37 °C).
- Parametereingabe von Gesamt- und Intervallzeit für die Messpunkte. Während der Messung ist ein vorzeitiger Stopp möglich.
- Auswertung als Kinetik über **Lineare Regression**. Nachträgliche Änderung des Zeitfensters für die Auswertung ist möglich.
- Die Messwerte werden in einem Extinktions-Zeit-Graphen dargestellt.
- Um Messwerte nachträglich als Kinetik über Lineare Regression auszuwerten, drücken Sie den Softkey [Next >] und gehen Sie zum Methoden-Schritt **process results.**

Multi λ
- Extinktionsmessungen bei zwei bis sechs Wellenlängen.
- Keine nachgeschaltete Auswertung.

Scan
- Messung eines Extinktions-Wellenlängen-Spektrums über einen definierten Wellenlängenbereich.
- Anzeige von Wellenlänge und Extinktion im Spektrum durch Navigation mit einem Wellenlängen-Cursor.
- Veränderung des Spektrenausschnitts über 3 verschiedene Zoom-Varianten möglich.
- Peak-Erkennung möglich.

6.2.2 Methodengruppe *Routine*

Die Methoden der Gruppe ***Routine*** sind als feste Methoden vorprogrammiert. Nach Änderung von Methodenparametern in den fest vorprogrammierten Methoden muss daher ein neuer Methodenname vergeben werden.

Nucleic acids
- Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren durch Messung bei 260 nm und Auswertung über Faktor.
- Verschiedene Nukleinsäuremethoden wie dsDNA oder RNA sind vorprogrammiert. Die Parameter unterscheiden sich durch den Faktor.
- Vorprogrammierte Methode für Mikroliterküvetten: Messung von DNA in Probenvolumen im Mikroliterbereich mit Lichtweg 1 mm (mit Mikroliterküvetten wie Eppendorf µCuvette G1.0 oder Hellma® TrayCell).
- Zusatzinformationen zur Reinheit der gemessenen Nukleinsäure: Ratio A260/A280, Ratio A260/A230, Extinktions-Wellenlängen-Spektrum der Nukleinsäure, Extinktion der Background-Wellenlänge (voreingestellt: 320 nm; die Extinktion der reinen Nukleinsäure sollte hier annähernd Null betragen).
- Partielle Trübungskorrektur über Parameter **Background** möglich.
- Umrechnung der Konzentrationen in molare Konzentrationen sowie (nach Eingabe des Probenvolumens) in Nukleinsäuremengen möglich (Methodenschritt: **process results**).

Proteins direct UV
- Konzentrationsbestimmung von Proteinen durch Messung bei 280 nm und Auswertung über Faktor oder Standard.
- Vorprogrammierte Methoden zur direkten Ausgabe der Extinktionen als Ergebnis *(Protein A 280)* sowie zur Auswertung über Albumin-spezifischen Extinktionskoeffizienten *(Albumin A 280)*.
- Vorprogrammierte Methode für Mikroliterküvetten: Messung von Protein in Probenvolumen im Mikroliterbereich mit Lichtweg 1 mm (mit Mikroliterküvetten wie Eppendorf µCuvette G1.0 oder Hellma® TrayCell).
- Zusatzinformationen zur Reinheit des gemessenen Proteins: Extinktion der Background-Wellenlänge (voreingestellt: 320 nm; die Extinktion des reinen Proteins sollte hier annähernd Null betragen).
- Partielle Trübungskorrektur über Parameter **Background** möglich.
- Bei der Methodenprogrammierung wird durch einfache Auswahl des Proteins aus einer vorgegebenen Liste der zugehörige Faktor importiert. Die Definition der Faktoren erfolgt separat in den Funktionen der Gruppe **Gen. method param.** Verschiedene Proteine sind in **Gen. method param.** vorprogrammiert. Weitere können Sie hinzufügen.

Proteins (with reagent)
- Konzentrationsbestimmung von Proteinen durch Messung nach Farbreaktionen und Auswertung über Standards oder Faktor (typisch: Auswertung mit Standardkurve).
- Die Methoden *Bradford*, *Bradford micro*, *Lowry*, *Lowry micro*, *BCA und BCA micro* sind bereits vorprogrammiert. Je nach Reagenzhersteller muss gegebenenfalls der "Curve fit" (Standardkurventyp) verändert werden.

Dye labels

- Für Farbstoff-markierte Biomoleküle: Konzentrationsbestimmung des Biomoleküls (Nukleinsäure oder Protein) durch Messung bei 260 bzw. 280 nm sowie des Farbstoffs in einem Messablauf.
- Auswertung mit Faktor. Neben dem Biomolekül können bis zu zwei Farbstoffe bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen parallel gemessen werden.
- Zusätzlich Auswertung der Einbaurate des Farbstoffes (FOI). Auswahl zwischen zwei verschiedenen FOI-Berechnungsverfahren.
- Bereits vorprogrammierte Methoden: *ssDNA*, markiert mit *Cy 3* bzw. *Cy 5*.
- Korrektur des Einflusses des Farbstoff-Spektrums auf die Richtigkeit der Biomolekülmessung ist möglich.
- Partielle Trübungskorrektur über Parameter **Background** möglich.
- Zusatzinformationen zur Reinheit der gemessenen Stoffe: Ratio A260/A280 und Ratio A260/A230 (Ratio-Werte nur für Nukleinsäuren), Extinktions-Wellenlängen-Spektrum.
- Bei der Methodenprogrammierung werden durch einfache Auswahl des Biomoleküls sowie des Farbstoffs aus vorgegebenen Listen verschiedene zugehörige Parameter wie Messwellenlängen und Auswertefaktoren importiert. Die Definition dieser Parameter erfolgt separat in den Funktionen der Gruppe **Gen. method param.** Verschiedene Nukleinsäuren, Proteine und Farbstoffe sind in **Gen. method param.** vorprogrammiert. Sie können weitere Nukleinsäuren, Proteine und Farbstoffe hinzufügen.
- Nur für markierte Nukleinsäuren: Umrechnung der Konzentrationen in molare Konzentrationen sowie (nach Eingabe des Probenvolumens) in Nukleinsäure- und Farbstoffmengen möglich (Methodenschritt: **process results**).

Bacterial density

- Trübungsmessung zur Bestimmung der Bakteriendichte.
- Messung bei 600 nm ist bereits vorprogrammiert.
- Zusatzinformationen: Extinktions-Wellenlängen-Spektrum.

6.2.3 Methodengruppe *Basic*

Factor, Standard

- Messung bei einer Wellenlänge und Auswertung über Faktor oder Standard.
- Methoden für die Auswertung über Faktor und Standard sind vorprogrammiert.

Calibration curve

- Messung bei einer Wellenlänge und nachfolgende Auswertung mit einer Reihe von 2 bis 12 Standards.
- Verschiedene Auswerteverfahren ("Curve fit") wie lineare Regression, nichtlineare Regression sind auswählbar.
- Grafische und tabellarische Anzeige der Standardergebnisse.
- Nutzung der letzten gespeicherten Standardauswertung ist möglich.
- Eine Methode für die Auswertung mit Standardkurve ist vorprogrammiert.

Simple kinetics

- Messung einer Kinetik bei einer Wellenlänge und nachfolgende Auswertung mit Faktor.
- 3 verschiedene Messverfahren sind möglich:
  - "linear regression": Auswertung einer in Intervallen aufgenommenen Reihe von Messpunkten.
  - "two point": Berechnung von ΔA/min aus 2 Messpunkten zu definierten Zeitpunkten.
  - "endpoint": Aufnahme eines Messpunkts zu einem definierten Zeitpunkt.
- Parametereingabe zur Temperierung zwischen 20 und 42 °C ist möglich (Voreinstellung: 37 °C).
- Bei dem Messverfahren "linear regression" wird der Extinktion-Zeit-Verlauf graphisch dargestellt.
- Eine Methode für die Auswertung mit linearer Regression ist vorprogrammiert und kann durch einfache Auswahl für andere Auswerteverfahren ("endpoint", "two.point") verändert werden.

6.2.4 Methodengruppe *Advanced*

Dual wavelength

- Messung bei zwei Wellenlängen und Auswertung der gemessenen Extinktionswerte über zwei Grundformeln (Subtraktion, Division)
- Varianten der Grundformeln können definiert werden.
- Des Resultat kann mit einem Faktor, mit einem Standard oder mit einer Standardreihe ausgewertet werden.
- Methoden für die Berechnung über Subtraktion sowie über Division und nachfolgender Auswertung mit Faktor sind vorprogrammiert.

Advanced kinetics

Über die Beschreibung der Methode *Simple kinetics* (Methodengruppe ***Basic***) hinaus haben Sie folgende Möglichkeiten:

- Messung einer Reagenzleerwert-Kinetik. Das Leerwertergebnis wird vor der Auswertung von allen Probenergebnissen subtrahiert.
- Alternativ zur Auswertung über Faktor ist auch eine Auswertung über einen Standard möglich.

6.3 Methodenparameter

In diesem Kapitel werden die Parameter für die Programmierung der Methoden erläutert. Die Reihenfolge der Parameter in der Geräteanzeige kann im Vergleich zur Reihenfolge in der Tabelle bei einigen wenigen Methoden leicht verändert sein, um die Parameter in der Anzeige übersichtlich darzustellen. Die Tabelle stellt die Gesamtheit aller für die verschiedenen Methoden verfügbaren Parameter dar. Für die jeweilige Methode wird davon nur ein geringer Teil benötigt und in der Anzeige dargestellt.

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Cuvette	Auswahl: 10 I 5 I 2 I 1 I 0,5 I 0,2 I 0,1 mm	Optische Schichtdicke der Küvette. Extinktionswerte werden vom Gerät immer automatisch auf die Schichtdicke 10 mm einer Standardküvette umgerechnet (siehe *Extinktionswerte auf S. 105)*. Faktoren wie "50" für die Berechnung von dsDNA-Konzentrationen müssen daher nicht von Ihnen verändert werden, wenn Sie den Parameter **Cuvette** verändern.
No. of wavelengths	Werteeingabe: Bereich: 2 bis 6.	Nur für die Methodengruppe **Multi λ**. Anzahl der Wellenlängen, bei denen gemessen werden soll.
Wavelength	Werteeingabe: Messwellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Messwellenlänge: Auf der Basis der bei dieser Wellenlänge gemessenen Extinktion wird die Konzentration ausgerechnet. Bei den Methodengruppen **Multi λ** sowie **Dual wavelength** geben Sie mehr als eine Wellenlänge ein. Für einige Methodengruppen (z.B. **Nucleic acids** und **Proteins direct UV**) sind die Wellenlängen fest vorprogrammiert. Bei der Methodengruppe **Dye labels** geben Sie die Messwellenlängen nicht einzeln im Methodenablauf ein. Sie importieren sie über die einfache Auswahl von Biomolekül sowie Farbstoff automatisch aus der Funktion **General Method Parameters**.
Unit	Auswahl: mg/mL I µg/mL I ng/mL I pg/mL I µg/µL I mg/dL I µmol/mL I nmol/mL I pmol/mL I pmol/µL I U I U/mL I U/L I % I Abs I A/min Zusätzlich freie Programmierbarkeit weiterer Einheiten in der Funktion **General Method Parameters/ Units**. Max. 7 Stellen.	Einheit für das Konzentrationsergebnis. Die Auswahl ist bei den fest vorprogrammierten Methoden der Gruppe ***Routine*** auf für diese Methoden sinnvolle Einheiten begrenzt.
Formula type	Auswahl: division I subtraction	Nur für die Methodengruppe **Dual wavelength**. Formeltyp für die Verrechnung der Extinktionen bei den beiden Messwellenlängen vor Auswertung mit Faktor oder Standard.

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Formula: *a*	Werteeingabe: Wert für *a* in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe **Dual wavelength**. Wert für *a* in den Formeln: *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* und *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Formula: *b*	Werteeingabe: Wert für *b* in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe **Dual wavelength**. Wert für *b* in den Formeln: *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* und *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Formula: *c*	Werteeingabe: Wert für *c* in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe **Dual wavelength**. Wert für *c* in den Formeln: *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* und *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Formula: *d*	Werteeingabe: Wert für *d* in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe **Dual wavelength**. Wert für *d* in den Formeln: *[(a*A1) / (b*A2)] * c + d* und *[(a*A1) - (b*A2)] * c + d*.
Calculation	Auswahl: Factor | Standard	Auswerteverfahren für die Berechnung der Probenkonzentration aus der gemessenen Extinktion.
Factor	Werteeingabe: Faktor. Grenze: max. 6-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Faktor für die Umrechnung von Extinktionswerten in die Konzentration. Bei den folgenden Methodengruppen können Sie auch negative Faktoren eingeben: **Simple kinetics, Advanced kinetics, Dual wavelength, Factor**. Bei der Methodengruppe **Dye labels** geben Sie die Faktoren nicht einzeln im Methodenablauf ein. Sie importieren sie über die einfache Auswahl von Biomolekül sowie Farbstoff automatisch aus der Funktion **General Method Parameters**.
Protein	Auswahl: Liste von Proteintypen, die in der Funktion **General Method Parameters/Proteins** hinterlegt sind.	Nur für die Methodengruppen **Dye labels** und **Proteins direct UV.** Bei der Auswahl des Proteins wird aus der Funktion **General Method Parameters/Proteins** auch der dort programmierte zugehörige Parameter **Factor** importiert.
Standards	Werteeingabe: Zahl der Standards. Bereich: 1 bis 12.	Zahl der verschiedenen Standardkonzentrationen für die Auswertung mit Standards. Bei einigen Methoden ist der Bereich für die Anzahl der Standards auf einen kleineren Bereich als 1 bis 12 begrenzt.

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Replicates	Werteeingabe: Zahl der Replikate pro Standard. Bereich: 1 bis 3.	Zahl der Wiederholungsmessungen für die verschiedenen Standardkonzentrationen.
Std. Conc.	Werteeingabe: Konzentrationswerte der Standards. Grenze: Max. 6-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Je nach Zahl der Standards wird dieser Parameter für alle Standards angeboten (z.B.: Std. Conc. 1, Std. Conc. 2, ...).
Decimal places	Werteeingabe: Zahl der Nachkommastellen für das Ergebnis. Bereich: 0 bis 3.	Zahl der Nachkommastellen für das berechnete Konzentrationsergebnis.
Dye 1	Auswahl: Liste von Farbstoffen, die in der Funktion **General Method Parameters/Dyes** hinterlegt sind.	Nur für die Methodengruppe **Dye labels**. Bei der Auswahl des Farbstoffs werden aus der Funktion **General Method Parameters/Dyes** auch die dort programmierten, dem Farbstoff zugehörigen Parameter importiert: Faktor, Wellenlänge, ggf. Korrekturfaktoren für die Messung bei 260 bzw. 280 nm (siehe Beschreibung des folgenden Parameters).
Correct A260 1	Auswahl: ein | aus	Nur für die Methodengruppe **Dye labels**. Korrektur des Einflusses des Farbstoffspektrums auf die Extinktion bei der Messwellenlänge des Biomoleküls (260 bzw. 280 nm). Die Farbstoffspektren haben z.T. eine geringe Extinktion bei 260 und 280 nm. Diese Extinktionen verfälschen die Berechnungen für die Nukleinsäuren bzw. Proteine dieser Methoden. Zur Minimierung dieser Verfälschung werden Korrekturfaktoren benutzt, sofern diese für die jeweiligen Farbstoffe bekannt sind. Wird der Parameter eingeschaltet, wird der Korrekturfaktor aus der Funktion **General Method Parameters/Dyes** importiert.
Correct A 280 1	Auswahl: ein | aus	Nur für die Methodengruppe **Dye labels**. Zur Erläuterung siehe Beschreibung des obigen Parameters **Correct A 260 1**.
Dye 2 active	Auswahl: ein | aus	Nur für die Methodengruppe **Dye labels**. Möglichkeit, auch einen zweiten Farbstoff parallel zu messen. Anwendung: Markierung eines Biomoleküls mit zwei Farbstoffen.
Dye 2	Auswahl: Liste von Farbstoffen, die in der Funktion **General Method Parameters/Dyes** hinterlegt sind.	Nur für die Methodengruppe **Dye labels** bei Messung von 2 Farbstoffen. Auswahl des zweiten Farbstoffs (vgl. Parameter **Dye 1**).

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Correct A260 2	Auswahl: ein | aus	Nur für die Methodengruppe **Dye labels** bei Messung von 2 Farbstoffen. Analog zu Parameter **Correct A 260 1**.
Correct A 280 2	Auswahl: ein | aus	Nur für die Methodengruppe **Dye labels** bei Messung von 2 Farbstoffen. Analog zu Parameter **Correct A 280 1**.
Show scan	Auswahl: ein | aus	Anzeige eines Scans (Extinktions-Wellenlängen-Graphen) zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung.
Start λ	Werteeingabe: Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Startwellenlänge für die Aufnahme des Scans.
Stop λ	Werteeingabe: Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm. Wert muss höher sein als der Wert für **Start λ**.	Stoppwellenlänge für die Aufnahme des Scans.
A260/A280	Auswahl: ein | aus	Nur für Nukleinsäuren. Anzeige der Ratio A260/A280 zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung.
A260/A230	Auswahl: ein | aus	Nur für Nukleinsäuren. Anzeige der Ratio A260/A230 zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung.
FOI	Auswahl: none | dye/kb | pmole/µg	Nur für die Methodengruppe **Dye labels**. Anzeige des FOI zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung. Der FOI (Frequency of Incorporation) ist ein Maß für die Zahl der in die Nukleinsäure eingebauten Farbstoffmoleküle pro Molekül der Nukleinsäure. Einheiten sind "dye/kb" (Moleküle Farbstoff pro 1000 Basen) oder "pmole/µg" (pmol Farbstoff pro µg Nukleinsäure). "none": keine FOI-Berechnung.
Background	Auswahl: ein | aus	Vor der Ergebnisberechnung einer Probe wird die Extinktion einer Background-Wellenlänge, bei der der zu messende Analyt die Extinktion Null zeigen soll, von der Extinktion der Messwellenlänge subtrahiert. Häufige Anwendung: Partielle Trübungskorrektur bei Messung von Nukleinsäuren (Background-Wellenlänge hierfür: 320 nm oder 340 nm).
Wavelength	Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Wellenlänge, bei der der Background gemessen werden soll. Der zu messende Analyt sollte hier in reiner Form den Extinktionswert Null haben.
Background for dyes	Auswahl: ein | aus	Nur für die Methodengruppe **Dye labels**. Anwendung der Background-Korrektur auf die Messung des Farbstoffs (siehe Parameter **Background**).

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Wavelength	Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Nur für die Methodengruppe **Dye labels**. Wellenlänge, bei der der Background für den Farbstoff gemessen werden soll. Der zu messende Farbstoff in reiner, nicht kontaminierter Form sollte bei dieser Wellenlänge den Extinktionswert Null haben.
Temperature on	Auswahl: ein | aus	Nur für Kinetikmethoden. Nutzung der Küvettentemperierung.
Temperature	Werteeingabe: Temperatur in °C. Bereich: 20 bis 42 °C.	Nur für Kinetikmethoden. Temperatureingabe für die Küvettentemperierung, wenn Parameter **Temperature** auf "on" gesetzt ist. **Achtung! Schäden und Fehlmessungen durch Kondenswasser.** Bei hoher Luftfeuchtigkeit kann sich an einer Küvette mit deutlich geringerer Temperatur als Umgebungstemperatur Kondenswasser bilden. Das Kondenswasser kann Schäden an der Optik sowie falsche Messergebnisse verursachen. ▸ Temperieren Sie die Küvette nicht dauerhaft deutlich unterhalb der Umgebungstemperatur. Beachten Sie ggf. den vorliegenden Taupunkt.
Measuring procedure	Auswahl: lin.regr. | endpoint | two point	Nur für Kinetikmethoden. "linear regression": Messung über mehrere Zeitpunkte in festen Zeitintervallen in einem definierten Zeitraum. Auswertung durch lineare Regression des Extinktions-Zeit-Graphen innerhalb der Messzeit. Extinktionsergebnis: ΔA/min. "endpoint": Messung eines Messpunktes nach einer definierten Zeit. Extinktionsergebnis: A. "two point": Messung von 2 Messpunkten zu definierten Zeitpunkten. Auswertung: durch lineare Interpolation zwischen diesen Messpunkten im Extinktions-Zeit-Graphen. Extinktionsergebnis: ΔA/min.
Reagent blank	Auswahl: ein | aus	Nur für Kinetikmethoden der Methodengruppe **Advanced kinetics** bei Auswertung mit Faktor. Messung eines Reagenzleerwertes (RL). Der RL wird nach demselben Messverfahren wie eine Probe gemessen. Das Extinktionsergebnis in A bzw. ΔA/min wird vom Extinktionsergebnis der Probe subtrahiert, bevor die Probenkonzentration berechnet wird. Anwendung: Korrektur von Probenergebnissen bei Kinetiken mit Reagenzdrift. Der Reagenzleerwert enthält das Reagenz sowie demineralisiertes Wasser als Probe.

Parameter	**Eingabe**	**Erläuterung**
Delay	Werteeingabe: Zeit vom Start bis zum ersten Messpunkt. Bereich: 00:00 bis 10:00 min:sec.	Nur für Kinetikmethoden. Zeit vom Start des Messablaufs bis zur Aufnahme des ersten Messpunkts.
Measuring time	Werteeingabe: Zeit zwischen erstem und letztem Messpunkt. Bereich: 00:05 bis 59:59 min:sec.	Nur für Kinetikmethoden und Messverfahren "lin.regr." und "two point". Zeit von der Aufnahme des ersten bis zur Aufnahme des letzten Messpunkts.
Total time	Werteeingabe: Zeit zwischen erstem und letztem Messpunkt. Bereich: 00:05 bis 59:59 min:sec.	Nur für die Kinetikmethode **Single λ – cont**. Zeit von der Aufnahme des ersten bis zur Aufnahme des letzten Messpunkts.
Interval	Werteeingabe: Zeit zwischen zwei Messpunkten. Bereich: 00:05 bis 10:00 min:sec.	Nur für Kinetikmethoden und Messverfahren "lin.regr.". Zeitintervalle zwischen den Messpunkten.
Autoprint	Auswahl: ein I aus	Ausdruck eines Messergebnisses direkt nach der Messung mit dem Thermodrucker. Es werden nur die wesentlichen Ergebnisdaten ausgedruckt. Für die Ausgabe detaillierterer Daten können Sie zum Abschluss der Messserie im Methodenschritt **print & export** die gewünschten Datenpakete zusammen stellen und ausdrucken.

6.4 Methodenablauf



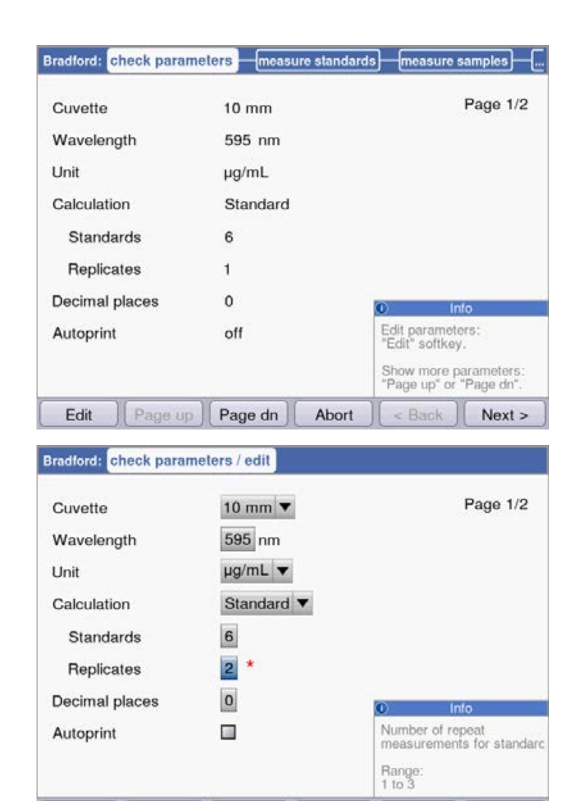
Der "Wizard" am oberen Rand der Anzeige führt Sie durch den Methodenablauf. Der jeweils aktive Methodenschritt ist hervorgehoben.

Ein Methodenablauf umfasst maximal 5 Schritte. Der jeweils aktive Schritt ist optisch hervorgehoben. Nach dem letzten Schritt **print & export** einer Messreihe wird als weiterer Schritt der Start einer neuen Messreihe angeboten. Diese beginnt wieder mit der Probenmessung.

Methodenschritt	Erläuterung
check parameters	Methodenparameter überprüfen. Änderung bei Bedarf.
measure standards	Nur bei Methoden mit Standardauswertung: Standards messen und auswerten. Alternativ Nutzung der zuletzt gespeicherten Standardauswertung möglich.
measure samples	Proben messen
process results	Nur bei einigen Methoden: Ergebnisse nachbearbeiten, z. B. Scan-Graphen zoomen.
print & export	Datenpakete für Druck oder Export der Daten zusammenstellen.

Mit den Softkeys [Next >] und [< Back] navigieren Sie zwischen den Methodenschritten. Mit [Abort] und [Finish] können sie den Messablauf abbrechen bzw. beenden. Der Name dieses Softkeys wechselt nach der ersten Probenmessung von [Abort] auf [Finish].

6.4.1 check parameters



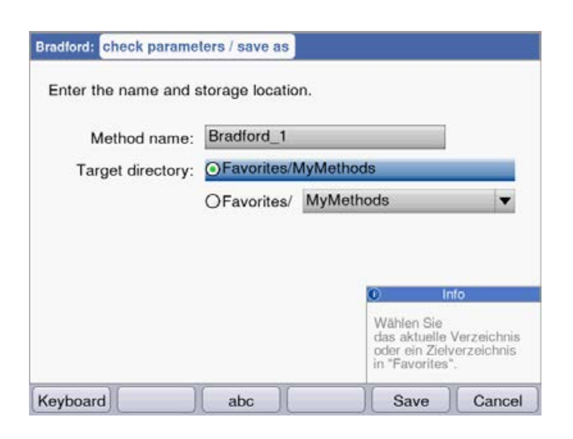
Softkeys

- [Page dn] und [Page up]: Zwischen den 1 bis 3 Parameterseiten wechseln.
- [Edit]: In den Editiermodus für Parameter wechseln.

Editiermodus für Parameter:
Geänderte Parameter werden mit einem roten Stern markiert, solange die Änderung nicht gespeichert wurde.

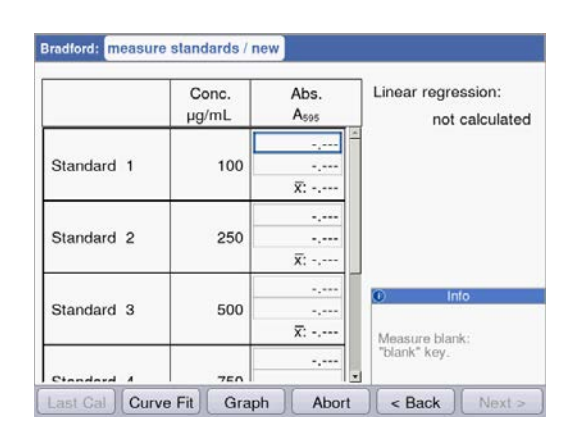
Softkeys

- [Save] und [Save as]: Änderungen speichern. Bei [Save as] müssen Sie der Methode einen neuen Namen geben. Das ist immer der Fall, wenn Sie die von Eppendorf vorprogrammierten Methoden der Gruppe ***Routine*** ändern.
- [Cancel]: Editiermodus ohne Speicherung der Änderungen verlassen.



Speichern der Methode unter neuem Namen:
Sie können die Methode entweder im selben Ordner speichern, in dem Sie die Methode aufgerufen haben, oder in der Methodengruppe ***Favorites*** in einem frei wählbaren Ordner speichern.
Den Namen (maximal 20-stellig) können Sie über eine eingeblendete Tastatur (Softkey [Keyboard]) oder direkt über den Tastenblock (siehe *Text eingeben auf S. 25)* eingeben.
Nach dem Speichern gelangen sie zurück in die Anzeige **check parameters**.

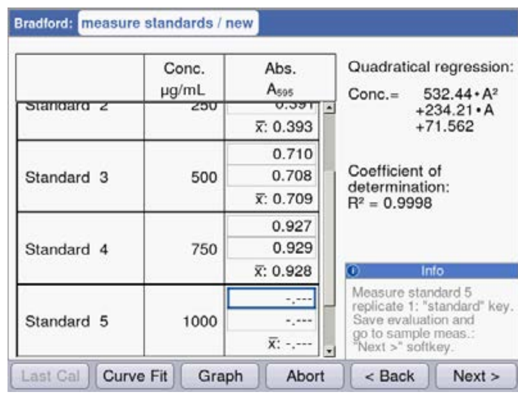
6.4.2 measure standards



Der erste zu messende Standard ist in der Anzeige markiert. Messen Sie nach dem Leerwert (Taste **blank**) der Reihe nach alle Standards (Taste **standard**).
Wenn Sie mehr als ein Replikat pro Standard messen, wird der Mittelwert für jeden Standard automatisch errechnet und angezeigt.
Mit den Cursor-Tasten ▲ und ▼ können Sie auch gezielt bestimmte Standards zur Messung auswählen. Auch eine Neumessung einzelner Standards ist so möglich.

Softkeys

- [Last call]: Die zuletzt gespeicherte Standardauswertung für diese Methode aufrufen, um diese für Probenmessungen zu nutzen.
- [Curve fit]: Verfahren zur Standardauswertung auswählen. Sie können das Verfahren auch nachträglich ändern, solange das Ergebnis nicht gespeichert wurde. Hinweise zur Auswahl des Auswerteverfahrens finden Sie im Kapitel Auswerteverfahren (siehe *Auswertung mit Standardkurve/-gerade auf S. 108)*.
- [Graph]: In die grafische Anzeige der Standardergebnisse wechseln.



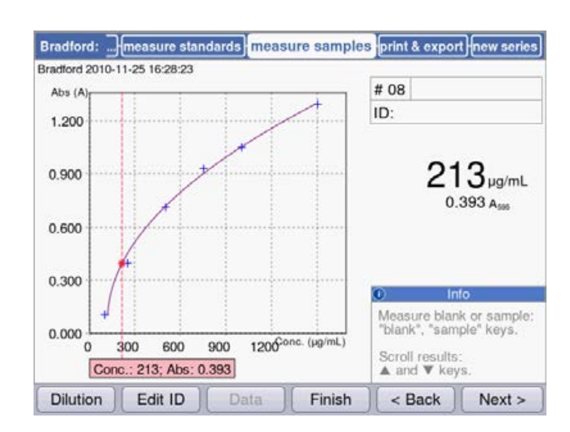
Sobald die minimale Zahl von Ergebnissen für die Auswertung mit dem gewählten Verfahren (Curve fit) vorliegt, wird das Auswertungsergebnis im rechten Teil der Anzeige dargestellt. Eine vorzeitige Speicherung der Auswertung und Wechsel zur Probenmessung über die Taste [Next >] ist dann möglich.

Grafische Ansicht der Standardauswertung.
Mit den Cursor-Tasten ◀ und ▶ navigieren Sie zwischen den Standards, um die Ergebnisse anzuzeigen. Bei mehr als einem Replikat pro Standard können Sie mit ▲ und ▼ zwischen den Replikatergebnissen wechseln. Auch aus der grafischen Anzeige können Sie einzelne Standards anwählen und messen oder neu messen.

Softkeys
- [Table]: In die tabellarische Anzeige der Standardergebnisse wechseln.
- [Next >]: Standardauswertung speichern und zur Probenmessung wechseln.

6.4.3 measure samples

Mit der Taste **sample** messen Sie der Reihe nach Ihre Proben. Leerwertergebnisse bleiben für eine Messreihe gespeichert, eine neue Leerwertmessung ist aber jederzeit möglich. Mit den Tasten ▲ und ▼ können Sie zwischen den bisher in der Messreihe erzielten Probenergebnissen navigieren.



Ergebnisanzeige:
- Das Konzentrationsergebnis (6-stellig mit Fließkomma) wird deutlich hervorgehoben.
- Mit Grafik: Ergebnis rechts in der Anzeige.
- Ohne Grafik: Ergebnis zentral in der Anzeige.
- Zusätzlich zum Ergebnis wird der zugrunde liegende Extinktionswert kleiner angezeigt.

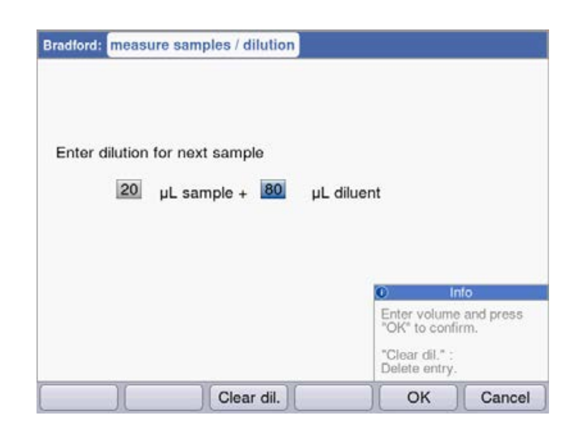
Weitere Daten
- oben rechts; 1. Zeile:
  Probennummer: wird fortlaufend gezählt und für jede neue Messreihe wieder auf "1" gesetzt.
  Probenverdünnung (sofern eingegeben)
- oben rechts; 2. Zeile:
  Probenidentifikation (**ID**) (sofern eingegeben)
- oben links:
  Dateiname, unter dem die Daten im Methodenschritt **print and export** als Excel-Datei exportiert werden (siehe S. 64).

Softkeys
- [Dilution]: Probenverdünnung eingeben.
- [Edit ID]: Proben-ID eingeben
- [Data]: Zusätzliche Ergebnisdaten anzeigen (nicht bei allen Methoden).
- [Finish]: Messreihe beenden und zur Methodenauswahl zurückkehren.



Die angezeigten Extinktionswerte entsprechen immer den direkt gemessenen Werten. Verdünnungs- oder Küvettenfaktor sowie Backgroundextinktionen werden erst für die anschließende Ergebnisberechnung einbezogen (siehe *Extinktionswerte auf S. 105*).

Verdünnung eingeben



Der Softkey [Dilution] ist aktiviert, nachdem der Leerwert (Taste **blank)** gemessen worden ist.

1. Drücken Sie den Softkey [Dilution].
2. Geben Sie die Volumina für die Probe (maximal 3-stellig) und für den Verdünnungspuffer (maximal 4-stellig) ein.

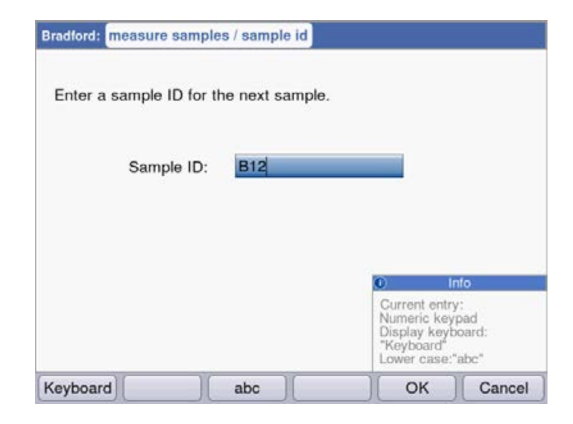
Die nachfolgenden Probenergebnisse werden vom Gerät mit dem errechneten Verdünnungsfaktor multipliziert.

Softkeys
- [Clear dil.]: Werte für die Probenverdünnung löschen.
- [OK]: Probenverdünnung bestätigen und zur Probenmessung zurückkehren.
- [Cancel]: Eingabe abbrechen und zur Probenmessung zurückkehren.

Die Verdünnung wird für alle nachfolgenden Probenergebnisse angewendet, bis sie durch erneute Eingabe geändert wird.

Proben-ID eingeben

Die ID wird für das nachfolgende Probenergebnis angewendet. Bei Eingabe einer ID wird die zuletzt eingegebene ID vorgegeben, um so schnell fortlaufend strukturierte IDs eingeben zu können. Eine doppelte Vergabe derselben ID innerhalb einer Messreihe ist nicht möglich.

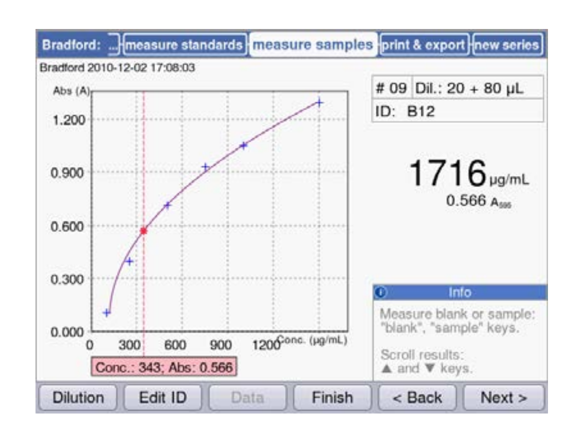


1. Drücken Sie den Softkey [Edit ID].
2. Geben Sie die Proben-ID (maximal 12-stellig) ein.

Alternativen zur Texteingabe:
- Tastenblock: Bei mehrmaligem Drücken der Taste direkt hintereinander werden die Eingabemöglichkeiten dieser Taste durchlaufen.
- Tastatur mit Softkey [Keyboard] einblenden: Zeichen mit den Cursor-Tasten auswählen und mit **enter** bestätigen.

Softkeys
- [Keyboard]: Tastatur einblenden.
- [abc]: Wechsel zwischen Groß- und Kleinbuchstaben bei Eingabe über den Tastenblock.
- [OK]: ID-Eingabe bestätigen und zur Probenmessung zurückkehren.
- [Cancel]: Eingabe abbrechen und zur Probenmessung zurückkehren.

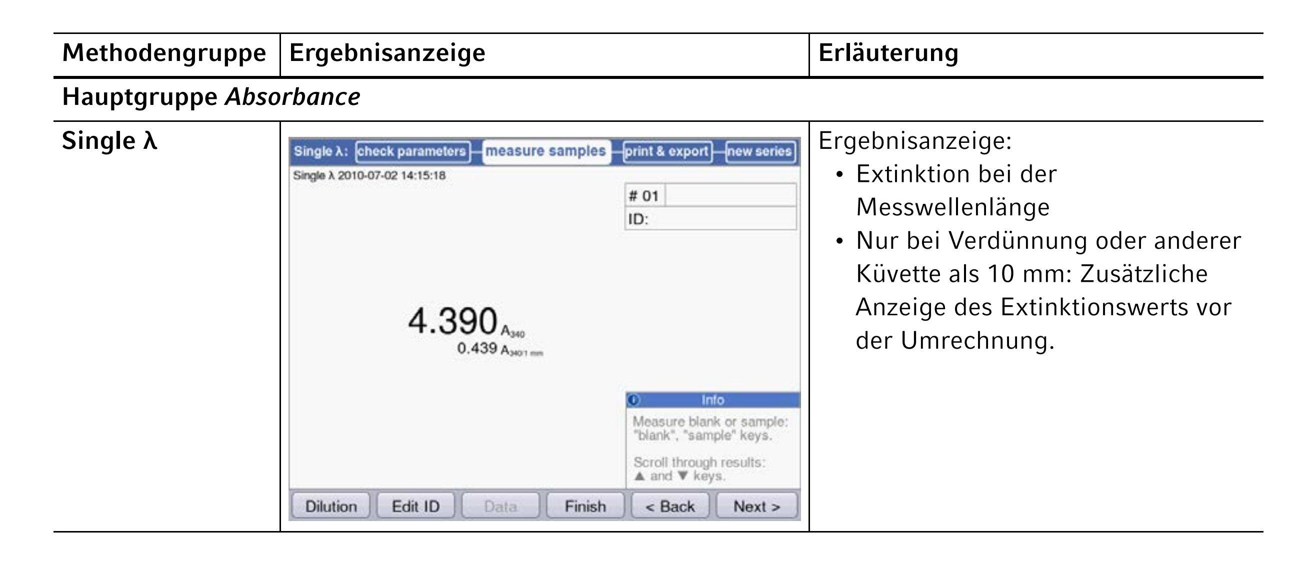
Ergebnisbild mit Verdünnung und ID

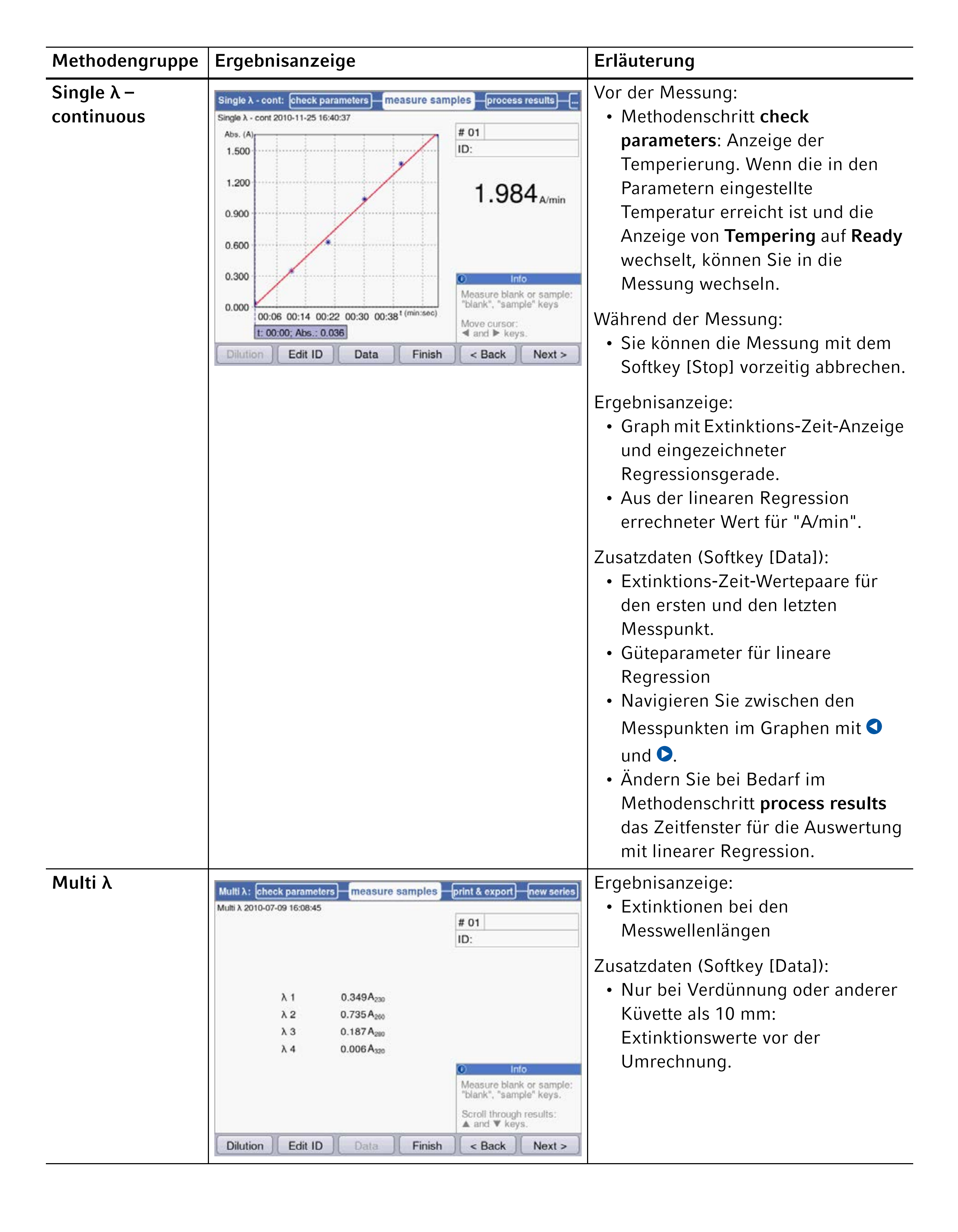


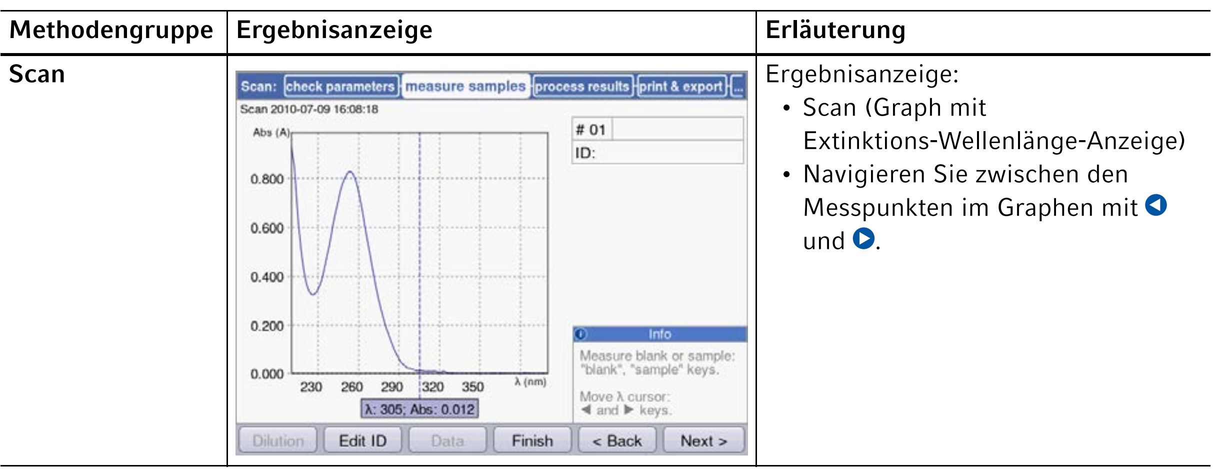
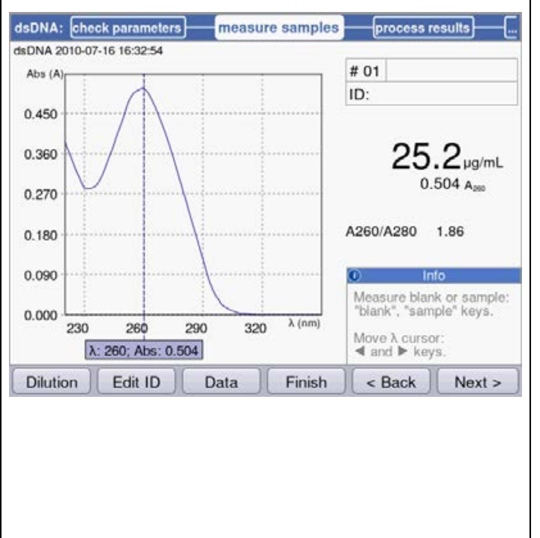
Ergebnisbild mit Verdünnung und Proben-ID.

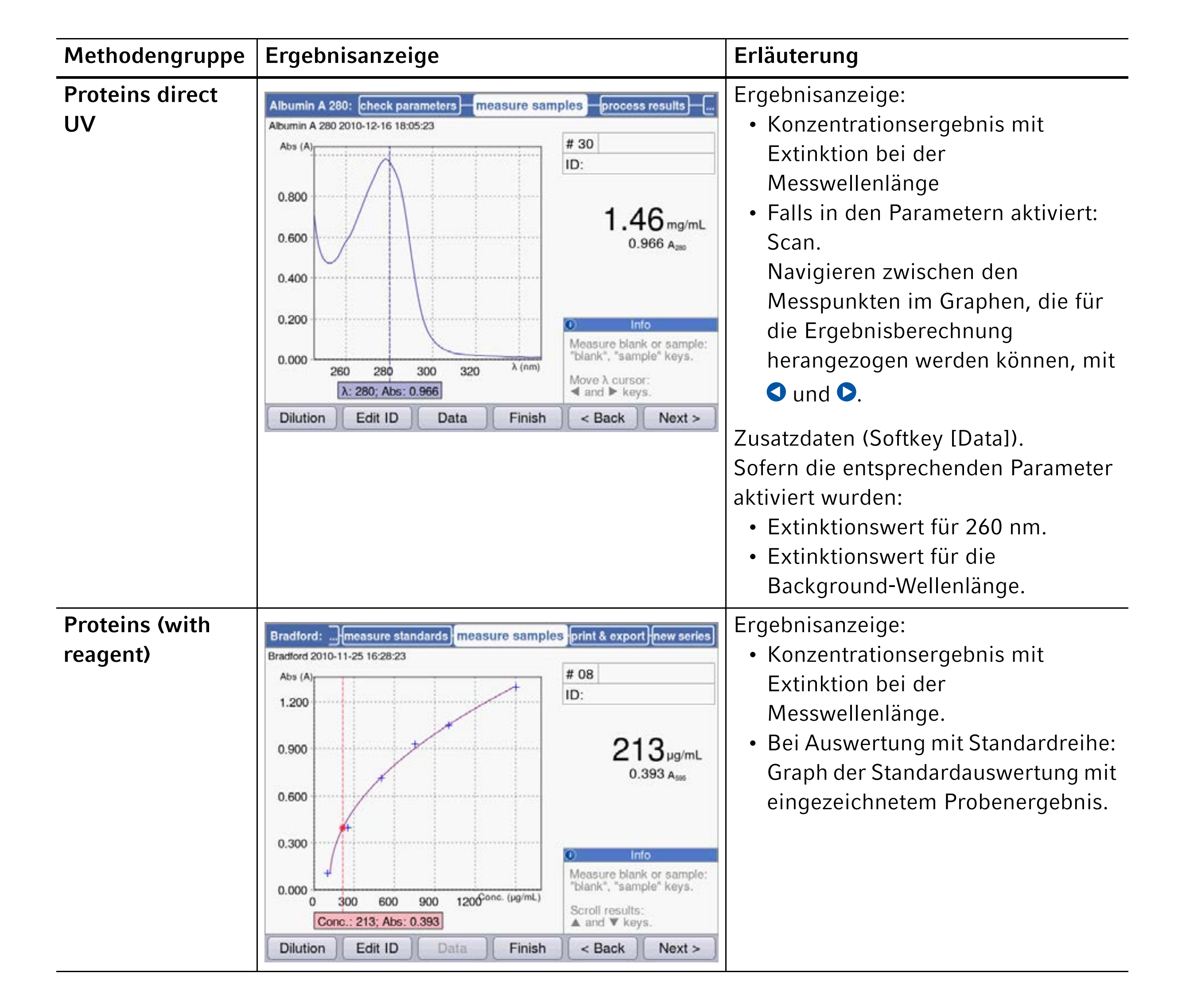
6.4.4 measure samples: Ergebnisanzeigen

In diesem Abschnitt erhalten Sie für alle Methodengruppen eine Darstellung typischer Ergebnisanzeigen sowie einen Überblick über weitere Ergebnisdaten, die Sie über den Softkey [Data] erreichen.

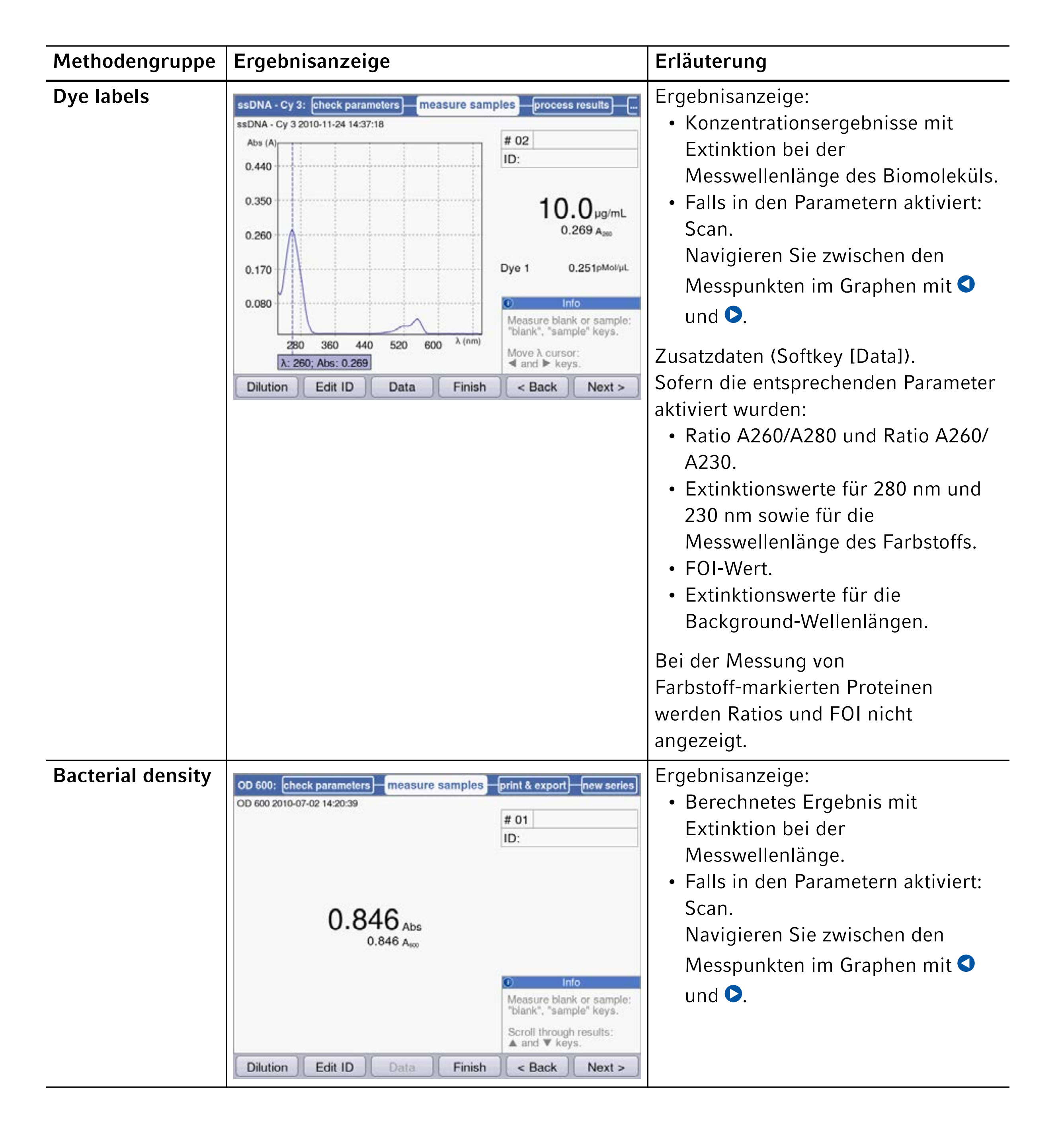
Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Hauptgruppe *Absorbance*		
Single λ		Ergebnisanzeige: • Extinktion bei der Messwellenlänge • Nur bei Verdünnung oder anderer Küvette als 10 mm: Zusätzliche Anzeige des Extinktionswerts vor der Umrechnung.

Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Single λ – continuous		Vor der Messung: • Methodenschritt **check parameters**: Anzeige der Temperierung. Wenn die in den Parametern eingestellte Temperatur erreicht ist und die Anzeige von **Tempering** auf **Ready** wechselt, können Sie in die Messung wechseln. Während der Messung: • Sie können die Messung mit dem Softkey [Stop] vorzeitig abbrechen. Ergebnisanzeige: • Graph mit Extinktions-Zeit-Anzeige und eingezeichneter Regressionsgerade. • Aus der linearen Regression errechneter Wert für "A/min". Zusatzdaten (Softkey [Data]): • Extinktions-Zeit-Wertepaare für den ersten und den letzten Messpunkt. • Güteparameter für lineare Regression • Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶. • Ändern Sie bei Bedarf im Methodenschritt **process results** das Zeitfenster für die Auswertung mit linearer Regression.
Multi λ		Ergebnisanzeige: • Extinktionen bei den Messwellenlängen Zusatzdaten (Softkey [Data]): • Nur bei Verdünnung oder anderer Küvette als 10 mm: Extinktionswerte vor der Umrechnung.

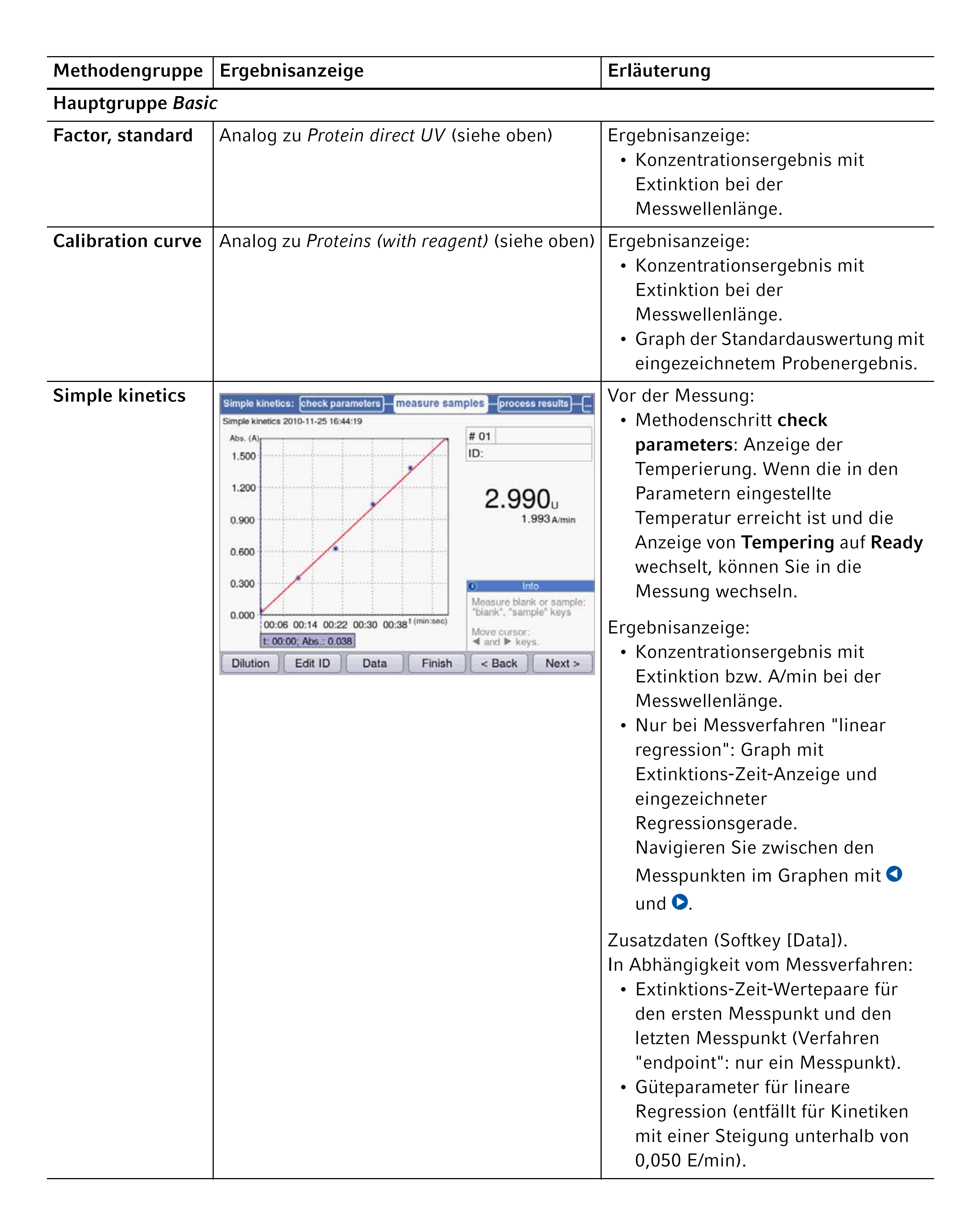
Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Scan		Ergebnisanzeige: • Scan (Graph mit Extinktions-Wellenlänge-Anzeige) • Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶.
Hauptgruppe *Routine*		
Nucleic acids		Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge • Falls in den Parametern aktiviert: Ratio A260/A280 • Falls in den Parametern aktiviert: Scan. Navigieren zwischen den Messpunkten im Graphen, die für die Ergebnisberechnung herangezogen werden können, mit ◀ und ▶. Zusatzdaten (Softkey [Data]). Sofern die entsprechenden Parameter aktiviert wurden: • Extinktionswert für 280 nm. • Ratio A260/A230 und Extinktionswert für 230 nm. • Extinktionswert für die Background-Wellenlänge.



Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Proteins direct UV		Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge • Falls in den Parametern aktiviert: Scan. Navigieren zwischen den Messpunkten im Graphen, die für die Ergebnisberechnung herangezogen werden können, mit ◀ und ▶. Zusatzdaten (Softkey [Data]). Sofern die entsprechenden Parameter aktiviert wurden: • Extinktionswert für 260 nm. • Extinktionswert für die Background-Wellenlänge.
Proteins (with reagent)		Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge. • Bei Auswertung mit Standardreihe: Graph der Standardauswertung mit eingezeichnetem Probenergebnis.



Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Dye labels		Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnisse mit Extinktion bei der Messwellenlänge des Biomoleküls. • Falls in den Parametern aktiviert: Scan. Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶. Zusatzdaten (Softkey [Data]). Sofern die entsprechenden Parameter aktiviert wurden: • Ratio A260/A280 und Ratio A260/ A230. • Extinktionswerte für 280 nm und 230 nm sowie für die Messwellenlänge des Farbstoffs. • FOI-Wert. • Extinktionswerte für die Background-Wellenlängen. Bei der Messung von Farbstoff-markierten Proteinen werden Ratios und FOI nicht angezeigt.
Bacterial density		Ergebnisanzeige: • Berechnetes Ergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge. • Falls in den Parametern aktiviert: Scan. Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶.

Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Hauptgruppe *Basic*		
Factor, standard	Analog zu *Protein direct UV* (siehe oben)	Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge.
Calibration curve	Analog zu *Proteins (with reagent)* (siehe oben)	Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge. • Graph der Standardauswertung mit eingezeichnetem Probenergebnis.
Simple kinetics		Vor der Messung: • Methodenschritt **check parameters**: Anzeige der Temperierung. Wenn die in den Parametern eingestellte Temperatur erreicht ist und die Anzeige von **Tempering** auf **Ready** wechselt, können Sie in die Messung wechseln. Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bzw. A/min bei der Messwellenlänge. • Nur bei Messverfahren "linear regression": Graph mit Extinktions-Zeit-Anzeige und eingezeichneter Regressionsgerade. Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶. Zusatzdaten (Softkey [Data]). In Abhängigkeit vom Messverfahren: • Extinktions-Zeit-Wertepaare für den ersten Messpunkt und den letzten Messpunkt (Verfahren "endpoint": nur ein Messpunkt). • Güteparameter für lineare Regression (entfällt für Kinetiken mit einer Steigung unterhalb von 0,050 E/min).

Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Hauptgruppe *Advanced*		
Dual wavelength		Ergebnisanzeige: • Konzentrationsergebnis: Wird aus $\mathbf{A}_{\mathbf{calc.}}$ mit Faktor oder Standardauswertung berechnet. • $\mathbf{A}_{\mathbf{calc.}}$: Wird mit der in den Parametern definierten Formel aus den bei den beiden Wellenlängen gemessenen Extinktionen berechnet. • Extinktionswerte, die bei den beiden Messwellenlängen gemessen wurden. Zusatzdaten (Softkey [Data]). Sofern die entsprechenden Parameter aktiviert wurden: • Extinktionswert für die Background-Wellenlänge.
Advanced kinetics	Analog zu *Simple kinetics* (siehe oben).	Zusätzlich zu den Daten wie bei Methodengruppe **Simple kinetics**: Zusatzdaten (Softkey [Data]). Sofern der entsprechende Parameter aktiviert wurde: • Extinktion bzw. A/min für den Reagent Blank.

6.4.5 process results

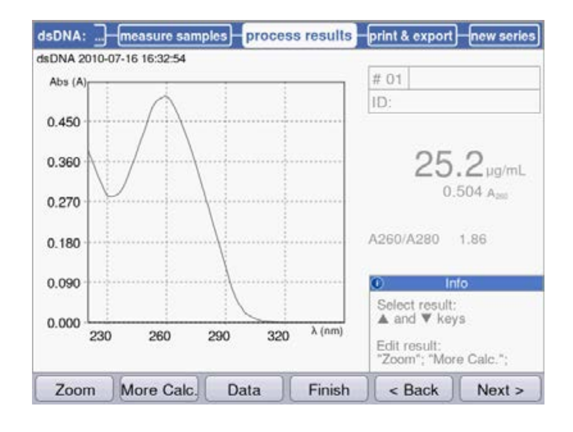
Nach der Probenmessung folgen im Methodenablauf zwei optionale Schritte: **process results** und **print & export**.

Im Schritt **process results** können Sie bei einigen Methoden die Ergebnisse nachbearbeiten. Beispiel: Veränderung des Spektrenausschnitts eines Scans.

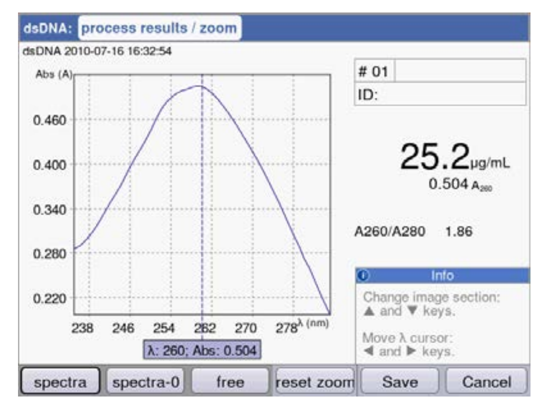
Wie in der Ergebnisanzeige können Sie mit den Cursor-Tasten ▲ und ▼ zwischen den Probenergebnissen der Messreihe navigieren und gezielt Ergebnisse zur Nachbearbeitung auswählen.

Tab. 6-3: Optionen: Übersicht

Option	Erläuterung	Verfügbar in Methode
Zoom	Achsenbegrenzung bei Extinktions-Wellenlängen-Graphen verändern, um die Darstellung auf vergrößerte Ausschnitte des Graphen zu beschränken.	Grundsätzlich alle Methoden, für die der Parameter **Scan** angeboten wird und aktiviert wurde. • **Multi λ** • **Scan** • **Nucleic acids** • **Proteins direct UV** • **Dye labels**
More calculations	Konzentrationsergebnisse in molare Konzentrationen sowie (nach Volumeneingabe) in Gesamtmengen umrechnen.	• **Nucleic acids** • **Dye labels** (mit Nukleinsäuren als Biomolekül)
Peak detection	Peaks in Extinktions-Wellenlängen-Spektren erkennen.	• **Scan**
Linear regression	Zeitfenster für die Auswertung einer Kinetik durch lineare Regression verändern.	Grundsätzlich alle Kinetik-Methoden, bei denen das Messverfahren "Linear regression" benutzt wurde. • **Single λ - continuous** • **Simple kinetics** • **Advanced kinetics**

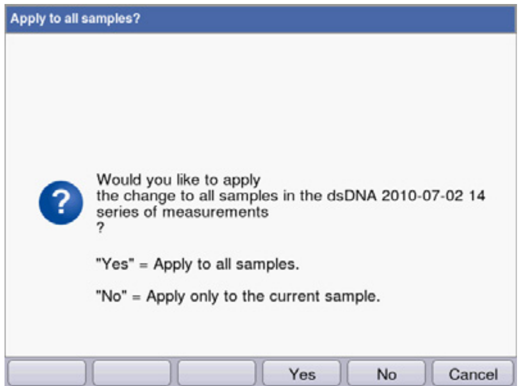


Optionen für die Nachbearbeitung werden auf den beiden linken Softkeys angeboten. In diesem Beispiel: [Zoom] und [More Calculations].



Nach Änderungen können Sie den aktuellen Modus mit den beiden rechten Softkeys verlassen:

- [Save]: Änderung speichern und zum Methodenschritt **process results** zurückkehren.
- [Cancel]: Abbrechen und zum Methodenschritt **process results** zurückkehren.

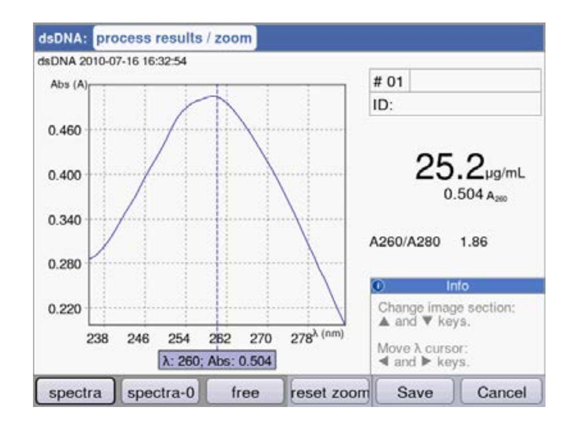


Nach Speicherung der Änderungen können Sie diese mit [Yes] auf alle Proben der Messreihe übertragen.

6.4.6 process results: Optionen

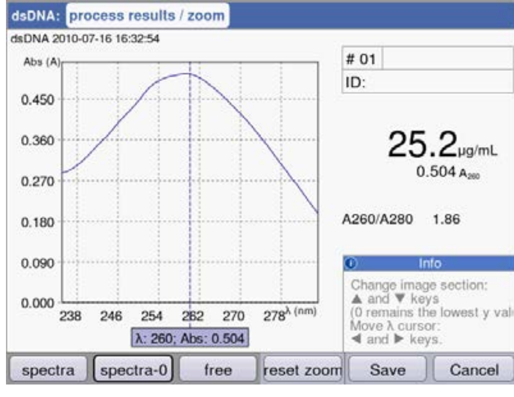
Zoom

Drücken Sie den Softkey [Zoom] und wählen Sie eine der folgenden Varianten aus.

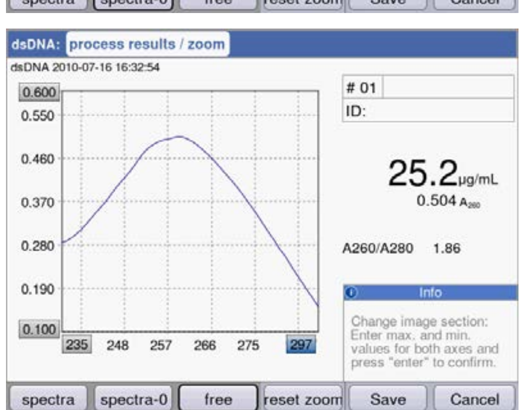


Variante [spectra]:

- Cursor-Tasten ◀ und ▶: Wellenlängen-Cursor bewegen. Dieser bestimmt den Zoom-Mittelpunkt über der x-Achse.
- Cursor-Tasten ▲ und ▼: Angezeigten Ausschnitts der x-Achse stufenweise nach dem SpectraZoom-Verfahren vergrößern und verkleinern.
  Der angezeigte Ausschnitt der y-Achse wird bei jedem Schritt automatisch so angepasst, dass Maximum und Minimum der darzustellenden Daten den Ausschnitt optimal ausnutzen.



Variante [spectra-0]:
Entspricht der Variante [spectra] mit der Ausnahme: Die untere Grenze des dargestellten Ausschnitts der y-Achse entspricht immer "0 A".

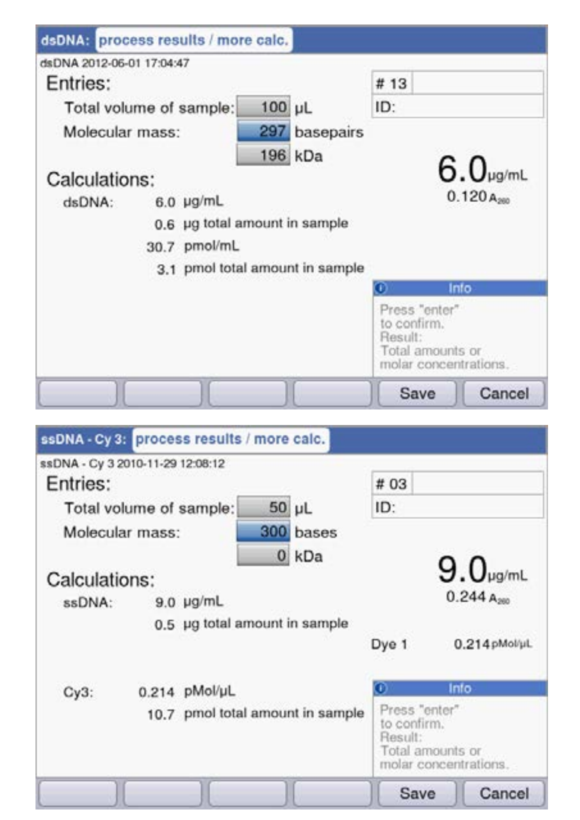


Variante [free]:
Intervallgrenzen für beide Achsen können frei eingegeben werden.
Navigation zwischen den Eingabefeldern mit den Cursor-Tasten (▲, ▼ ◀, ▶).

Bei allen 3 Varianten führt der Softkey [reset zoom] zur Ausgangsdarstellung des Spektrums zurück.

More calculations

Drücken Sie den Softkey [More calc.].



Methodengruppe **Nucleic acids**:

- Nach Eingabe der Molmasse (alternativ in Basen/ Basenpaaren oder in kDa): Konzentrationsergebnis in die molare Konzentration umrechnen.
- Nach Eingabe des Probenvolumens: Gesamtmenge in der Probe berechnen.

Methodengruppe **Dye labels**:
Nukleinsäure:

- Nach Eingabe der Molmasse (alternativ in Basen/ Basenpaaren oder in kDa): Konzentrationsergebnis in die molare Konzentration umrechnen.
- Nach Eingabe des Probenvolumens: Gesamtmenge in der Probe berechnen.

Farbstoff:

- Nach Eingabe des Volumens der Probe: Gesamtmenge in der Probe berechnen.



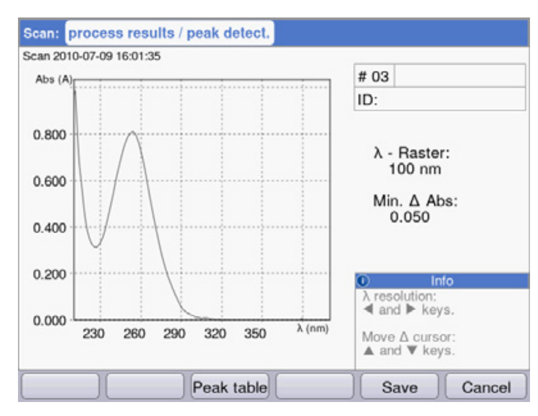
- Für **dsDNA** wird bei der Berechnung der molaren Konzentration eine doppelsträngige Nukleinsäure angenommen. Für die Methoden **ssDNA**, **RNA** und **Oligo** wird eine einzelsträngige Nukleinsäure angenommen.
- Für Methoden, die in der Hauptgruppe ***Routine***, Methodengruppe **Nucleic acids** über **<New Method>** neu programmiert wurden, werden für die Berechnung der molaren Konzentration immer doppelsträngige Nukleinsäuren angenommen.

Peak detection

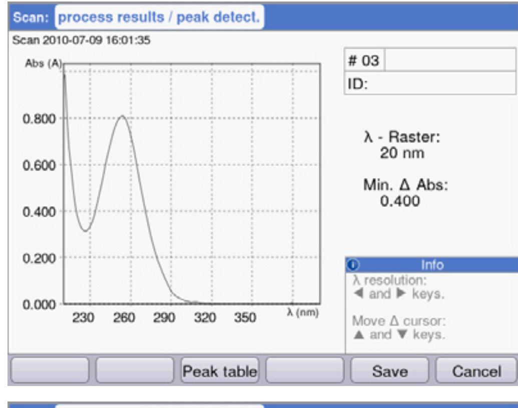
Drücken Sie den Softkey [Peaks]. Zur Peak-Erkennung können Sie zwei Kriterien variieren:

- **λ-Raster**: Beurteilungsraster auf der Wellenlängenskala für die Peak-Erkennung (z.B. 10 nm). Beispiel 10 nm: Der Spektrenausschnitt von -5 nm bis +5 nm in Bezug auf den zu erkennenden Peak wird beurteilt.
- **Mind. Δ Abs**: Minimale Differenz zwischen dem zu erkennenden Peak und der niedrigsten Extinktion im Beurteilungsraster. Gleichzeitig darf kein Extinktionswert im Raster höher sein als der Wert des Peaks (z.B.: 0.5).

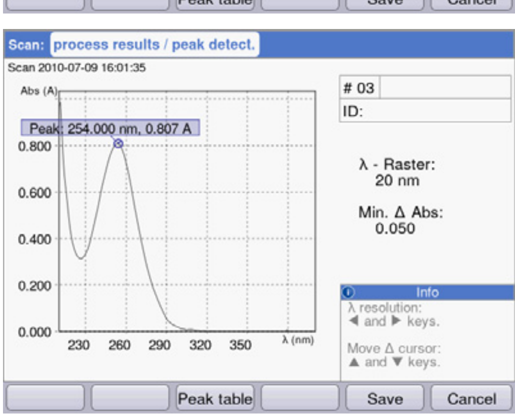
Beispiele:



λ-Raster: 100 nm, Mind. Δ Abs: 0.050:
Der Peak wird nicht erkannt, da das λ-Raster zu groß ist: Die Extinktionen am linken Rand des Rasters sind größer als die Extinktion des Peaks.



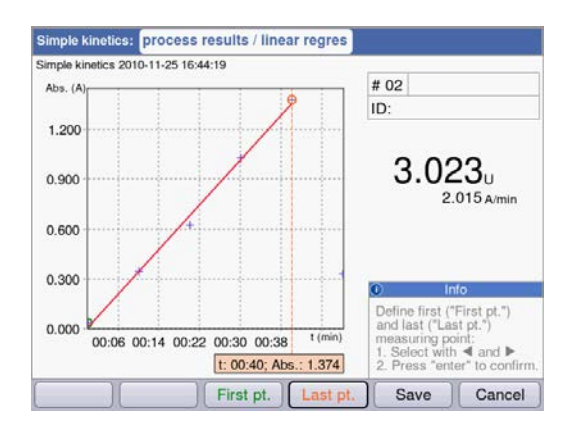
λ-Raster: 20 nm, Mind. Δ Abs: 0.200:
Der Peak wird nicht erkannt, da der vorgegebene Wert für **Mind. Δ Abs** zu groß ist. Die Differenz der Extinktion des Peaks und der niedrigsten Extinktion im Raster ist kleiner als 0.2 A.



λ-Raster: 20 nm, Mind. Δ Abs: 0.050:
Der Peak wird erkannt.

Linear regression

Bei Kinetikverfahren, die über das Messverfahren "Lineare Regression" ausgewertet werden, können Sie im Methodenschritt **process results** nachträglich die Anfangs- und End-Zeitpunkte für die Regressionsauswertung definieren.



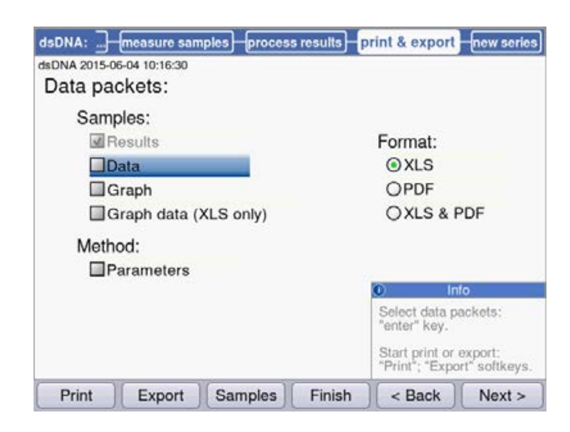
Messpunkte auswählen

- Softkey [First pt.]: Definieren Sie den ersten Messpunkt für die Regressionsauswertung.
  Wählen Sie den Messpunkt mit ◀ und ▶ aus.
  Bestätigen Sie mit **enter**.
- Softkey [Last pt.]: Definieren Sie letzten Messpunkt für die Regressionsauswertung.
  Wählen Sie den Messpunkt mit ◀ und ▶ aus.
  Bestätigen Sie mit **enter**.
- Parallel mit der Änderung der Zeitpunkte wird das Ergebnis jeweils neu berechnet. Hierfür wird auch der Reagenzleerwert in dem neu definierten Zeitfenster neu berechnet.

6.4.7 print & export

Im letzten optionalen Methodenschritt können Sie Datenpakete für alle oder für ausgewählte Proben einer Messreihe zusammenstellen:

- für den Ausdruck auf dem Drucker
- für den Export auf einen USB-Stick
- für den Export über USB-Kabel direkt zu einem PC
- für den Export per E-Mail



Datenpakete auswählen

- Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten und bestätigen Sie mit **enter**.

Format auswählen

- XLS: Als Excel-Tabelle exportieren oder ausdrucken.
- PDF: Als PDF exportieren oder ausdrucken.

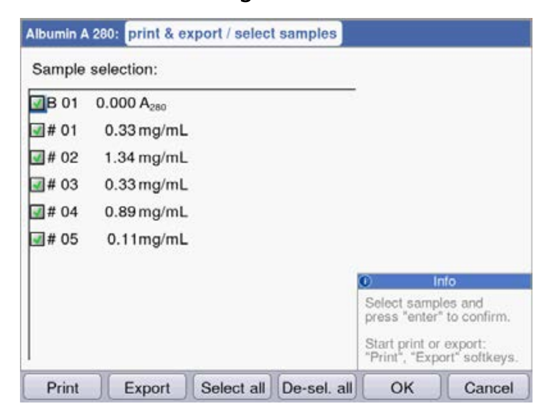
Softkeys

- [Print]: Ausdruck starten.
- [Export]: Export starten.
- [Sample]: Einzelne Probenergebnisse auswählen.

Datenpakete auswählen	
Results	Primäre Ergebnisdaten; nicht auswählbar, da sie immer übertragen werden.
Data	Zusätzliche Ergebnisdaten, die in den Ergebnisanzeigen während der Messung mit dem Softkey [Data] angezeigt werden.
Graph	Extinktions-Wellenlängen-Spektrum. (Nur bei Kinetikmethoden mit Messverfahren "Lineare Regression": Extinktions-Zeit-Graph.)
Graph data	Die nummerischen Basisdaten für den Graphen. "export only": Nur für den Export, nicht für den Ausdruck verfügbar.
Parameters	Methodenparameter
Standards/Results	Ergebnisdaten der Standardauswertung.
Standards/Graph	(Nur bei Standardauswertungen mit mehreren Standards:) Extinktions-Konzentrations-Graph.

In Abhängigkeit von der Methode und von der Parametereinstellung werden nur die jeweils verfügbaren Datenpakete angeboten.

Einzelne Probenergebnisse auswählen

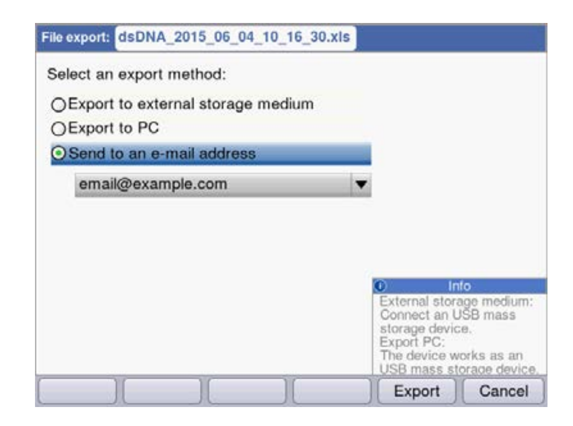


Proben auswählen
- Drücken Sie den Softkey [Samples] um die Probenauswahl aufzurufen.
- Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten und bestätigen Sie mit **enter**.

Softkeys
- [Select all]: Alle Proben auswählen
- [De-Sel. all]: Auswahl zurücksetzen.

Export starten

Die Daten werden als Excel-Datei (.xls) oder als PDF übertragen. Excel-Dateien sind mit Excel-Versionen ab Excel 97 lesbar. Für jedes der ausgewählten Datenpakete wird ein Tabellenblatt in Excel angelegt. Der Dateiname setzt sich aus dem Methodenamen, der Uhrzeit und dem Datum der Messreihe zusammen.



Export-Variante auswählen
- Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten und bestätigen Sie mit **enter**.
- Export to external storage medium: Daten auf einen USB-Stick speichern.
  Wenn kein USB-Stick angeschlossen ist, ist diese Variante nicht anwählbar.
- Export to PC: Daten auf einem PC speichern.
- Export via email: Daten an eine E-Mail-Adresse schicken.

Export auf USB-Stick

1. Schließen Sie einen USB-Stick, FAT-32-formatiert, an den USB-Anschluss **4** an (siehe *Gesamtillustration auf S. 17)* .
2. Starten Sie mit [Export] den "Export auf ein externes Speichermedium".

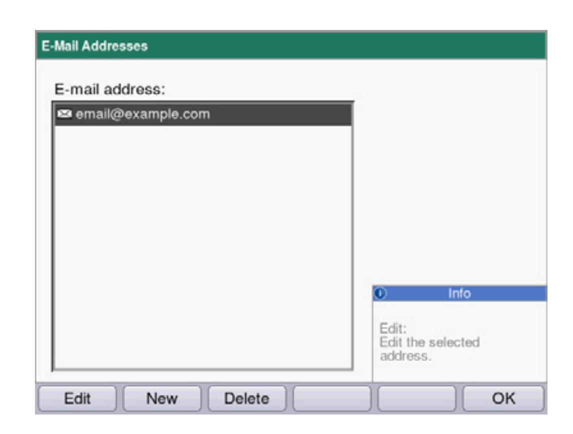
Export auf PC

Voraussetzung für das Betriebsystem des PC: Windows XP, SP2 oder höhere Version.

1. Verbinden Sie das Gerät mit dem PC über das USB-Kabel am USB-Anschluss **8** (siehe *Gesamtillustration auf S. 17)* .
2. Stellen Sie bei wiederholtem Export sicher, dass zuvor exportierte Daten auf die Festplatte des PC gespeichert wurden, da diese sonst durch den erneuten Export überschrieben würden.
3. Starten Sie mit [Export] den"Export auf den PC".
4. Das exportierte Datenpaket wird auf Ihrem PC als Wechseldatenträger mit dem Namen "eppendorf" angezeigt. Öffnen Sie die Datei in diesem Laufwerk und speichern Sie sie auf der Festplatte.

Export an eine E-Mail-Adresse

1. Wählen Sie aus der Liste eine E-Mail-Adresse oder wählen Sie "Edit", um eine neue E-Mail-Adresse einzurichten.
2. Starten Sie mit [Export] den "Versand an eine EMail-Adresse".



E-Mail-Adressen bearbeiten

- Wählen Sie in der Dropdownliste "Edit" und bestätigen Sie mit **enter**.
  Es öffnet sich ein Fenster, in dem die E-Mail-Adressen bearbeitet werden können.

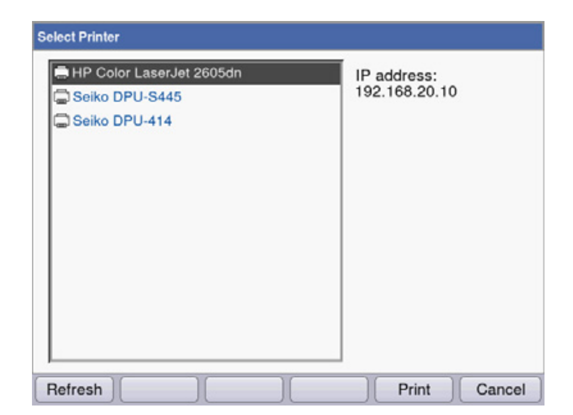
- [Edit]: E-Mail-Adresse bearbeiten.
- [New]: Neue E-Mail-Adresse anlegen.
- [Delete]: E-Mail-Adresse löschen.

Ausdruck starten

Die Daten können über Drucker im Netzwerk oder über einen angeschlossenen USB-Drucker ausgedruckt werden.



Wenn das Gerät an ein Netzwerk angeschlossen ist, werden automatisch alle kompatiblen Drucker im Netzwerk erkannt und angezeigt. Besteht keine Verbindung zum Netzwerk, steht nur ein angeschlossener USB-Drucker zur Auswahl.

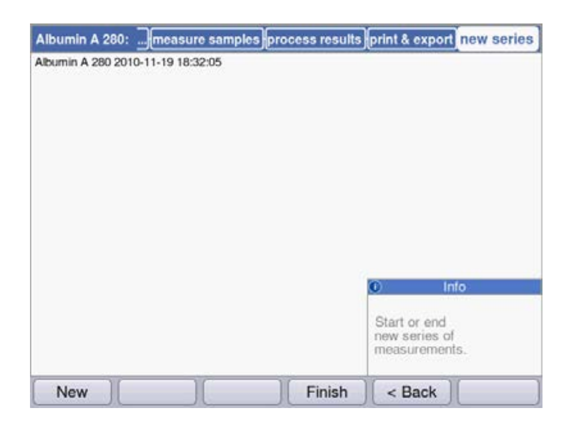


1. Wählen Sie einen Drucker aus.
2. Starten Sie mit [Print] den Ausdruck der Daten.

6.4.8 Messreihe abschließen

Im Anschluss an den letzten Methodenschritt **print & export** können Sie eine neue Messreihe mit der gewählten Methode starten oder eine neue Methode wählen.

Messreihe abschließen und neue Messreihe starten



- Softkey [Next >]: Methodenschritt **new series** aufrufen
- Softkey [New]: Methodenschritt **measure samples** aufrufen und eine neue Messreihe starten.

Messreihe abschließen und eine neue Methode wählen

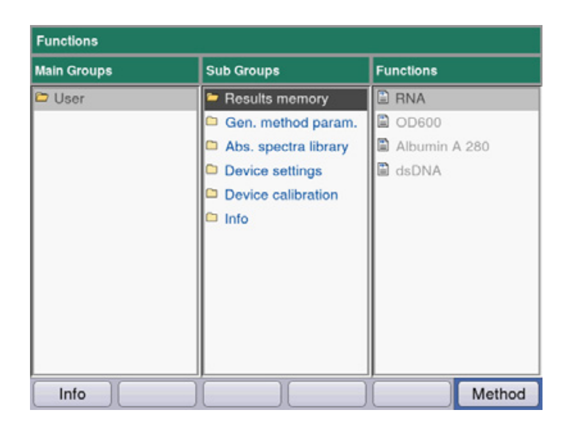
- Softkey [Finish]: Messreihe abschließen und Methodenauswahl aufrufen.

7 Funktionen

7.1 Funktionen der Hauptgruppe *User*

Mit der Taste **function** oder dem Softkey [Function] gelangen Sie in ein Menu mit Funktionen wie Geräteeinstellungen oder Abrufen gespeicherter Ergebnisse.

Die Funktionen sind analog zur Methodenauswahl in 3 Spalten strukturiert. Für Sie sind die Funktionen in der Hauptgruppe ***User*** zugänglich. Wie in der Methodenauswahl navigieren Sie mit den Cursor-Tasten, um zunächst die gewünschte Untergruppe und danach in der rechten Spalte die gewünschte Funktion auszuwählen. Mit **enter** rufen Sie die Funktion auf.

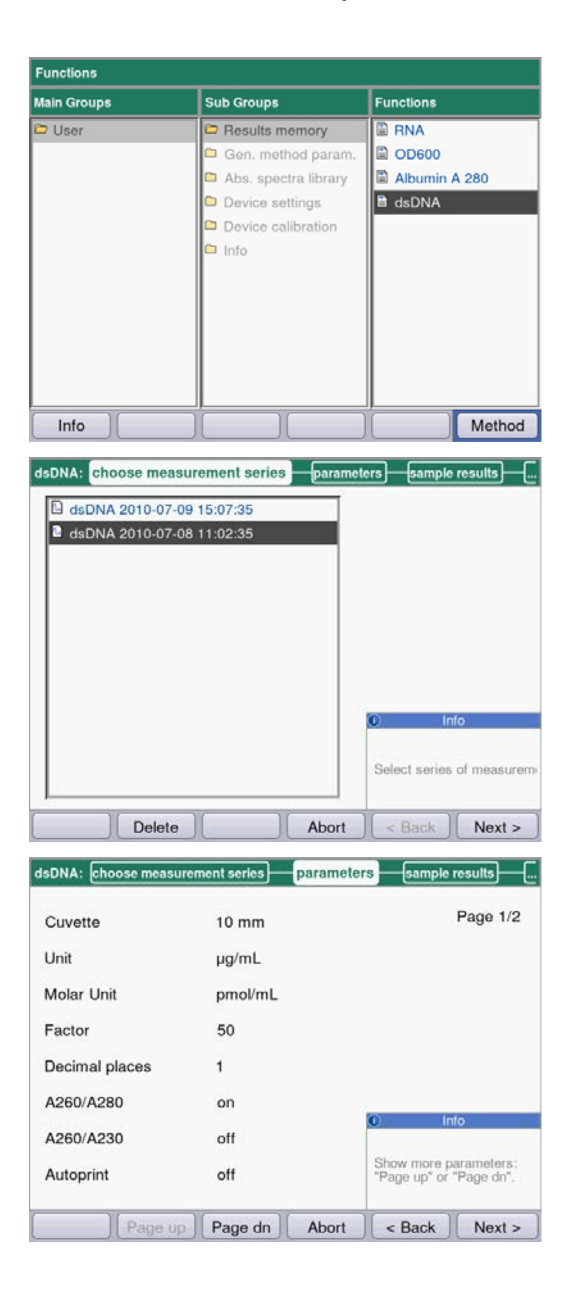


Softkey [Info]: Firmware-Version und Seriennummer des BioSpectrometer kinetic aufrufen.

Tab. 7-1: Übersicht über die Funktionen

Untergruppe	Erläuterung
Results memory	Gespeicherte Ergebnisse anzeigen. Die Ergebnisse sind nach Methoden und nach Messreihen strukturiert abrufbar und können aus dem Speicher heraus gedruckt und exportiert werden.
General method parameters	Parameter, die übergreifend für verschiedene Methoden genutzt werden, sind im Bereich **Functions** zentral gespeichert. Diese Parameter können hier editiert (geändert oder neu erstellt) werden. Im Methodenschritt **Check parameters** sind die übergreifenden Parameter über Auswahlboxen dann einfach auswählbar. • **Proteins**, **Nucleic acids**, **Dyes** enthalten Parameter, die für Methoden der Gruppe **Dye labels** und **Proteins direct UV** genutzt werden. • **Units**: Einheiten für Konzentrationsergebnisse, die für viele Methoden genutzt werden können.
Absorbance spectra library	Extinktions-Wellenlängen-Spektren wichtiger Substanzen, z. B. DNA. Die Spektren dienen der Information und können als Vergleich zum Spektrum eines Probenergebnisses herangezogen werden.
Device settings	Editierbare Geräteeinstellungen, z. B. Sprache.
Device calibration	• Möglichkeit zur Überprüfung des Spektralphotometers. Hierzu benötigen Sie einen Filtersatz von Eppendorf. • Möglichkeit zur Überprüfung der Temperiereinheit.
Info	Open-Source-Lizenzen und Informationen zu eingetragenen Warenzeichen.

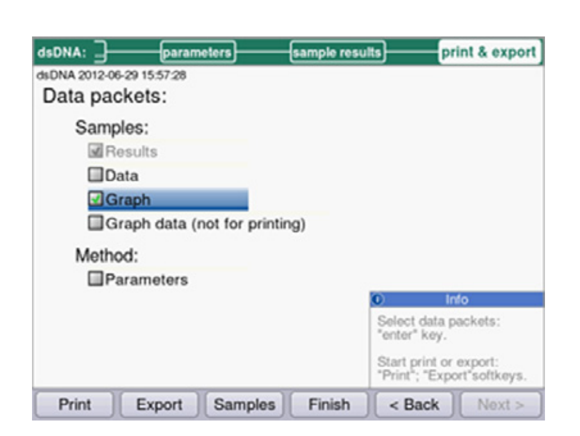
7.1.1 Results Memory



- Wählen Sie in der rechten Spalte die Methode aus, für die Sie gespeicherte Ergebnisse aufrufen möchten.
- Bestätigen Sie mit **enter**.

- Wählen Sie die gewünschte Messreihe mit den Cursor-Tasten.
- Bestätigen Sie mit **enter**.

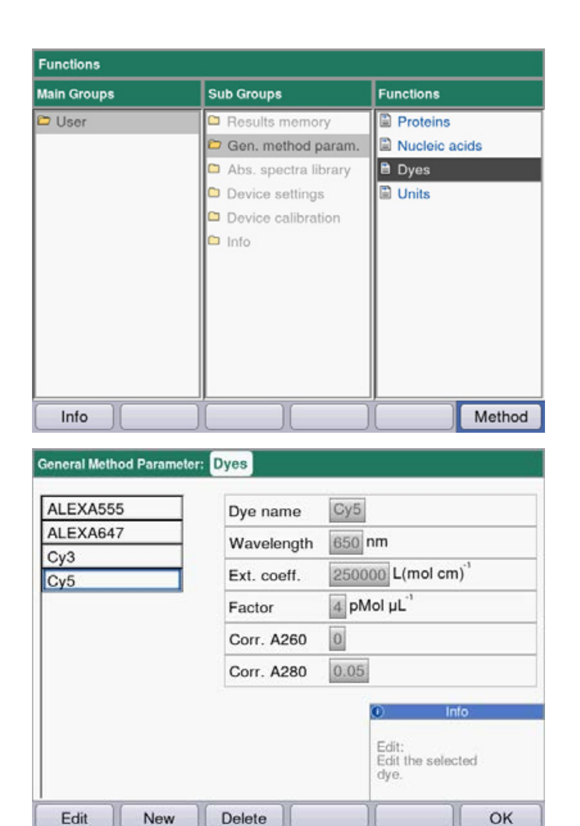
Wie im Methodenablauf können Sie auch hier der Reihe nach durch die Anzeigen der Parameter, der Standards, der Probenergebnisse und zuletzt der Datenpakete für Druck und Export wechseln.
Die Belegung der Softkeys entspricht der Belegung im Methodenablauf.



- Wenn Sie Ergebnisse drucken oder exportieren möchten, wählen Sie die Datenpakete aus.

Der Ablauf für Druck und Export sowie die Bedeutung der Funktionstasten entspricht dem Methoden-Schritt **print & export**.

7.1.2 General Method Parameters



- Wählen Sie in der rechten Spalte die Parametergruppe aus, für die Sie Parameter editieren möchten.
- Bestätigen Sie mit **enter**.

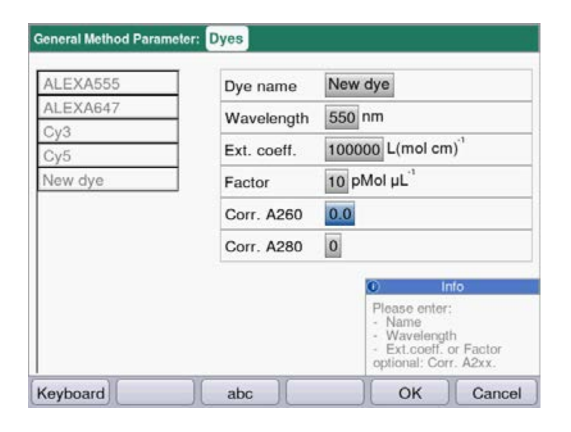
In diesem Beispiel sind Parametergruppen für verschiedene Dyes (Farbstoffkomponenten für die Dye-Methoden) zusammengefasst und jeweils unter einem Namen abgelegt. Unter diesem Namen kann die gewünschte Parametergruppe bei der Editierung einer Dye-Methode in das Methodenprogramm importiert werden.

Display:

- links: Name des Dyes. Wählen Sie mit ▲ und ▼.
- rechts: zugehörige Parameter

Softkeys

- [Edit]: Ausgewählte Parametergruppe editieren.
- [New]: Neue Parametergruppe erstellen.
- [Delete]: Ausgewählte Parametergruppe löschen.
- [OK]: In die Funktionsauswahl zurückkehren.



- Um eine Parametergruppe zu editieren, wählen Sie mit ▲ und ▼ den zu editierenden Parameter.
- Bestätigen Sie mit **enter**.

Softkeys

- [OK]: Eingabe speichern und in die Auswahl der Parametergruppe zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.

Bei der Programmierung einer Methode der Methodengruppen **Dye labels** oder **Proteins direct UV** können Sie auf die Einträge in **General Method Parameter** zugreifen:



Wählen Sie den Namen des Dyes aus, um die zugehörige Parametergruppe in das Methodenprogramm zu importieren. Über die Auswahl "edit" beim Parameter "Nucleic acid" können Sie auch direkt in die Funktion **General Method Parameter** gelangen und dort die Parameter ansehen sowie editieren.

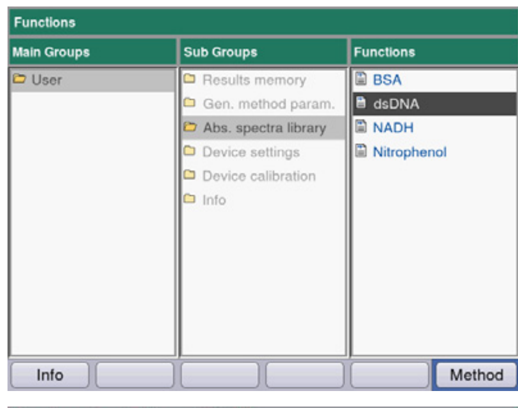
Tab. 7-2: Parameter in General Method Parameter

Parameter	Erläuterung
Proteins	Diese Parameter werden bei der Auswahl eines Proteins bei der Programmierung einer Methode der Gruppe **Dye labels** sowie **Proteins direct UV** in die Methodenparameter geladen.
• Protein name • Factor • $A_{0.1\%}$ • Ext.coeff. • Molecular mass	Neben dem Namen und der Wellenlänge können Sie zur Definition des Faktors für die Berechnung der Konzentration aus der Extinktion die folgenden Daten eingeben: Faktor **oder** $A_{0.1\%}$ **oder** Extinktionskoeffizient und Molmasse.
Nucleic acids	Diese Parameter werden bei der Auswahl einer Nukleinsäure bei der Programmierung einer Methode der Gruppe **Dye labels** in die Methodenparameter geladen.
• NA name • Factor • Double-stranded	Der Faktor wird zur Berechnung der Konzentration aus der Extinktion benutzt. Der Parameter Double-stranded hat Einfluss auf die Berechnung der molaren Nukleinsäurekonzentration (siehe *Umrechnung in molare Konzentrationen und Nukleinsäuremengen auf S. 110)*
Dyes	Diese Parameter werden bei der Auswahl eines Farbstoffs (Dyes) bei der Programmierung einer Methode der Gruppe **Dye labels** in die Methodenparameter geladen.
• Dye name • Wavelength • Ext.coeff. • Factor • Corr. A260 • Corr. A280	Neben dem Namen können Sie zur Definition des Faktors für die Berechnung der Konzentration aus der Extinktion die folgenden Daten eingeben: Faktor **oder** Extinktionskoeffizient. Die Korrekturfaktoren für die Extinktionen bei 260 bzw. 280 nm werden benutzt, wenn die Korrekturfunktion in den Methodenparametern aktiviert ist. Genaueres ist im Kapitel zur Auswertung beschrieben (siehe *Korrektur A_{260} und Korrektur A_{280} auf S. 109)*.
Units	Aus allen verfügbaren Einheiten können Sie bei der Programmierung von Methodenparametern eine Einheit auswählen.
• Unit	Eine noch nicht programmierte Einheit für das Konzentrationsergebnis eingeben.



- Kenndaten für Proteine, die nicht ab Werk vorprogrammiert sind, können in der Datenbank expasy ermittelt werden: http://www.expasy.org/tools/protparam.html.
- Eine Tabelle mit $A_{1\%}$-Werten für viele Proteine finden Sie auch in: C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4: 2411–2423 (Tabelle 5). Die $A_{1\%}$-Werte müssen mit 0,1 multipliziert werden, um die benötigten $A_{0,1\%}$-Werte zu erhalten.

7.1.3 Absorbance Spectra Library

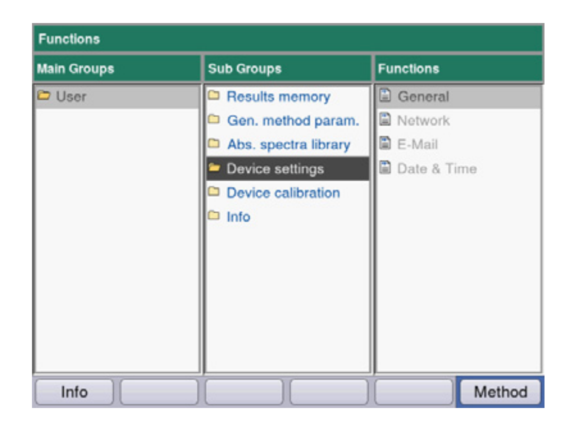


In der rechten Spalte wählen Sie das Spektrum aus, das Sie aufrufen möchten, und bestätigen Sie mit **enter**.

Softkeys

- [Export] und [Print]: Auf einen USB-Stick oder per USB-Kabel zu einem PC exportieren bzw. drucken (siehe *print & export auf S. 64)*.
- [OK]: In die Funktionsauswahl zurückkehren.

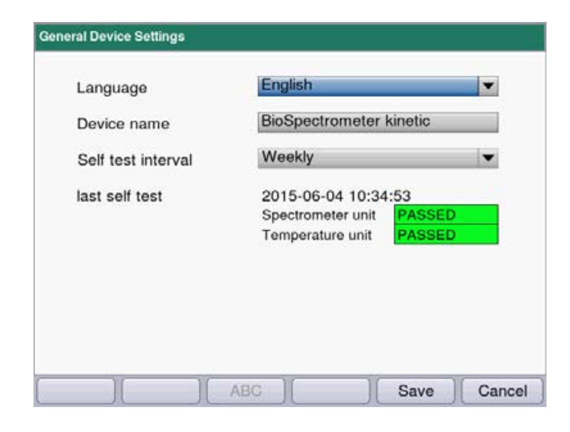
7.1.4 Device Settings



Folgende Einstellungen können angepasst werden:

Device Settings

- General
- Network
- E-Mail
- Date and Time

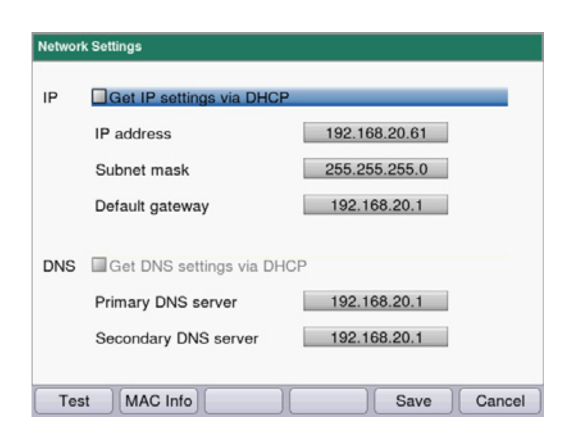


General Device Settings

- Sprache auswählen: Deutsch, Englisch, Französisch, Spanisch, Italienisch.
- Gerätename
- Häufigkeit der automatischen Selbstüberprüfung nach dem Einschalten des Geräts einstellen.
- Informationen zum letzen Selbsttest werden angezeigt.

Softkeys

- [Save]: Änderungen speichern und in die Funktionsauswahl zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.



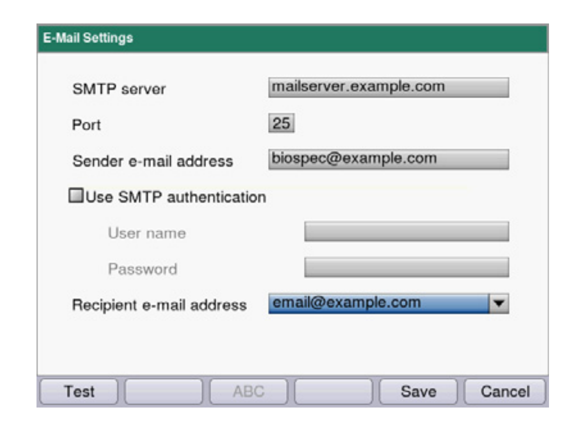
Network Settings

Fragen Sie ihren Netzwerk-Administrator, welche Einstellungen erforderlich sind.

- Auswahl, ob IP-Einstellungen automatisch per DHCP erfolgen sollen. Die IP-Einstellungen können auch manuell eingegeben werden.
  – IP-Adresse
  – Subnetzmaske
  – Standardgateway
- Auswahl, ob DNS-Einstellungen automatisch per DHCP erfolgen sollen (Nur verfügbar, wenn IP-Einstellungen automatisch per DHCP bezogen werden).
  Folgende DNS-Einstellungen können manuell eingegben werden:
  – Primärer DNS-Server
  – Sekundärer DNS-Server

Softkeys

- [MAC Info]: Informationen zu Netzwerkeinstellungen.
- [Save]: Änderungen speichern und in die Funktionsauswahl zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.



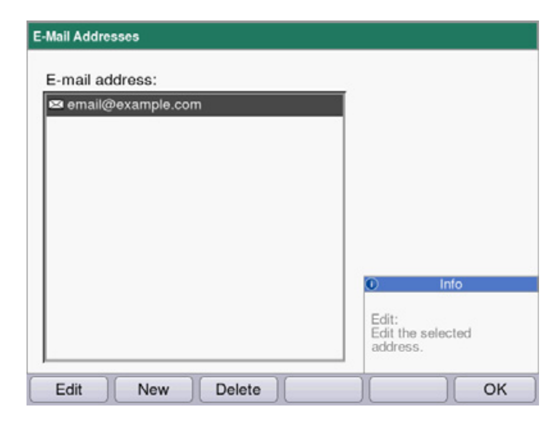
E-Mail Settings

Fragen Sie ihren Netzwerk-Administrator, welche Einstellungen erforderlich sind.

- SMTP Server: E-Mail-Server eingeben.
- Port eintragen.
- Absender: Gerätenamen eingeben.
- SMTP Authentifizierung verwenden: Falls eine Authentifizierung erforderlich ist, muss ein Benutzername und ein Passwort vergeben werden.
- Empfänger E-Mail-Adresse: Liste mit E-Mail Adressen.

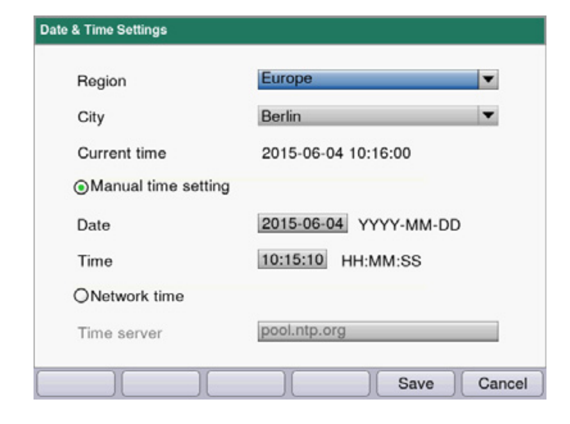
E-Mail-Adressen bearbeiten

- Wählen Sie in der Dropdownliste "Edit" und bestätigen Sie mit **enter**.
  Es öffnet sich ein Fenster, in dem die E-Mail-Adressen bearbeitet werden können.



Softkeys

- [Edit]: E-Mail-Adresse bearbeiten.
- [New]: Neue E-Mail-Adresse anlegen.
- [Delete]: E-Mail-Adresse löschen.



Date and Time Settings

- Region auswählen.
- Stadt auswählen.
- Anzeige der aktuellen Zeit
- ManuelleZeiteinstellung: Datum und Zeit eingeben.
- Netzwerkzeit
  Zeitserver: Gewünschten Zeitserver eintragen.

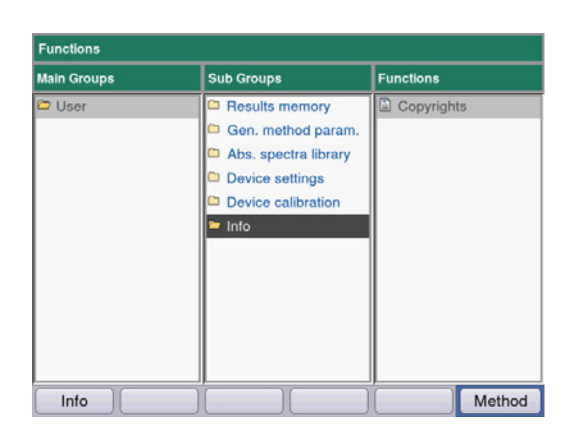
Softkeys

- [Save]: Änderungen speichern und in die Funktionsauswahl zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.

7.1.5 Device Calibration

Die Geräteüberprüfung ist separat beschrieben (siehe *Gerät überprüfen auf S. 81)*.

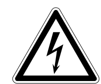
7.1.6 Info



Unter dem Menüpunkt **Copyright** finden Sie Lizenzinformationen zur Open-Source-Software.

8 Instandhaltung

8.1 Reinigung



GEFAHR! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es vom Stromnetz, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- Führen Sie keine Sprühreinigung/Sprühdesinfektion am Gehäuse durch.
- Schließen Sie das Gerät nur innen und außen vollständig getrocknet wieder an das Stromnetz an.



ACHTUNG! Korrosion durch aggressive Reinigungs- und Desinfektionsmittel.

- Verwenden Sie weder ätzende Reinigungsmittel noch aggressive Lösungs- oder schleifende Poliermittel.
- Inkubieren Sie das Zubehör nicht längere Zeit in aggressiven Reinigungs- oder Desinfektionsmitteln.

1. Wischen Sie die Oberflächen mit einem Tuch ab, das Sie mit einem milden Reinigungsmittel befeuchtet haben.

Küvettenschacht reinigen

2. Reinigen Sie den Küvettenschacht nur mit einem mit Ethanol oder Isopropanol befeuchteten fusselfreien Wattestäbchen. Vermeiden Sie, dass Flüssigkeit in den Küvettenschacht gelangt. Sofern zur Beseitigung der Verunreinigung mit Wasser befeuchtet werden musste, reinigen Sie abschließend mit einem mit Ethanol oder Isopropanol befeuchteten Wattestäbchen, um das Trocknen des Küvettenschachts zu beschleunigen.

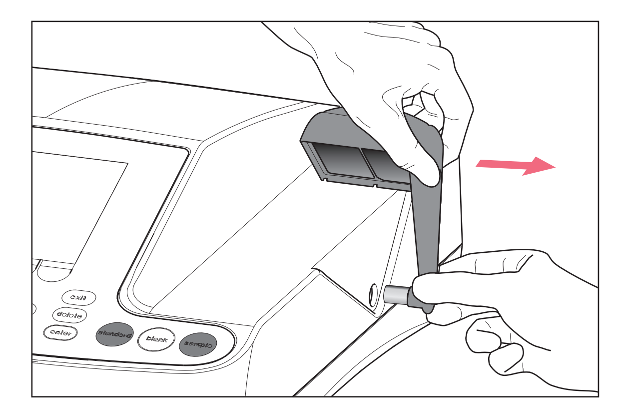
8.1.1 Küvettenschachtabdeckung reinigen

Wenn Sie nicht nur die direkt zugängliche Oberfläche der Küvettenschachtabdeckung reinigen möchten, können Sie die Abdeckung ausbauen.



- Weichen Sie die Küvettenschachtabdeckung nicht in Reinigungsmittel ein.
- Reinigen Sie die Küvettenschaftabdeckung wie beschrieben.

1. Heben Sie die Küvettenschachtabdeckung mit einer Hand an.
2. Fassen Sie mit der anderen Hand die Abdeckung auf Höhe des Haltestifts und ziehen Sie die Abdeckung nach rechts, bis der Haltestift ganz herausgezogen ist.





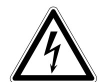
- Ziehen Sie die Abdeckung im 90-Grad-Winkel nach rechts.

3. Reinigen Sie die Abdeckung mit einem Tuch oder einem fusselfreien Wattestäbchen, das Sie mit einem milden Reinigungsmittel befeuchtet haben.
4. Schieben Sie den Haltestift bis zum Anschlag wieder in das Gehäuse hinein

   Der Haltestift ist im Gehäuse ganz verschwunden.

Verschließen Sie bei Nichtgebrauch des Photometers den Küvettenschacht mit der blauen Küvettenschachtabdeckung, um ihn vor Staub und anderen Verschmutzungen zu schützen.

8.2 Desinfektion/Dekontamination



GEFAHR! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es vom Stromnetz, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- Führen Sie keine Sprühreinigung/Sprühdesinfektion am Gehäuse durch.
- Schließen Sie das Gerät nur innen und außen vollständig getrocknet wieder an das Stromnetz an.

1. Reinigen Sie das Gerät vor der Desinfektion mit einem milden Reinigungsmittel (siehe *Reinigung auf S. 79)*.
2. Wählen Sie eine Desinfektionsmethode, die den für Ihren Anwendungsbereich geltenden gesetzlichen Bestimmungen und Richtlinien entspricht.
3. Verwenden Sie z.B. Alkohol (Ethanol, Isopropanol) oder alkoholhaltige Desinfektionsmittel.
4. Wischen Sie die Oberflächen mit einem Tuch ab, welches Sie mit Desinfektionsmittel befeuchtet haben.
5. Wenn zur Desinfektion die Küvettenschachtabdeckung ausgebaut werden muss, verfahren Sie zum Ausbau und Zusammenbau wie beschrieben (siehe *Küvettenschachtabdeckung reinigen auf S. 80)*.
6. Die demontierte Küvettenschachtabdeckung können Sie mittels Sprühdesinfektion desinfizieren.

8.3 Gerät überprüfen

Voraussetzungen:
- Umgebungsbedingungen einhalten (siehe *Umgebungsbedingungen auf S. 101)*.
- Prüfung bei ca. 20 °C durchführen. Temperaturschwankungen vermeiden (z. B. durch geöffnete Fenster).
- Filter nur kurzfristig dem Filterkasten entnehmen und vor Verschmutzung oder Beschädigung der Filteroberflächen schützen.
- Filter vor Staub, Hitze, Flüssigkeit und aggressiven Dämpfen schützen.
- Filter ist so eingesetzt, dass der Aufkleber mit der Filterbezeichnung zum Detektor hin zeigt.
  Bei Überprüfung der Spektrometereinheit: Aufkleber zeigt nach vorn.
- Küvettenschacht ist frei von Verschmutzungen.

8.3.1 Spektrometereinheit überprüfen

Zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und der Wellenlängenrichtigkeit wird von Eppendorf ein Filtersatz (BioSpectrometer Referenzfiltersatz) angeboten. Der Satz enthält ein Leerwertfilter A0 und drei Filter A1, A2 und A3 zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit sowie 3 Filter zur Überprüfung der Wellenlängenrichtigkeit im Bereich von 260 nm bis 800 nm. Die Extinktionen der Filter werden gegen das Leerwertfilter A0 gemessen. Zusätzlich zu den Informationen über die Richtigkeit erhalten Sie auch Informationen über die Präzision: Aus den jeweils 15 Messungen pro Wellenlänge wird neben dem Mittelwert auch der Variationskoeffizient (VK-Wert) berechnet.

Zur Messung setzen Sie zunächst das Leerwertfilter (für die Leerwertmessung) und anschließend die Prüffilter wie Küvetten in den Küvettenschacht ein. Die für die Prüffilter gemessenen Extinktionswerte werden gegen den zulässigen Wertebereich verglichen. Die Grenzwerte für den zulässigen Bereich sind für die einzelnen Filter in einer Tabelle im Deckel des Filterkastens abgedruckt.

Wenn Sie die Werte dokumentieren wollen, schließen Sie den Eppendorf Thermodrucker an.

BioSpectrometer reference filter set eppendorf

Function : Device calibration/Spectrometer unit

Order No./Best. Nr.: 6135 928.001
Set No./Satz Nr.: 006

Limits measured against Blank A 0 at approx. 20°C
Grenzwerte gemessen gegen Blank A 0 bei ca. 20°C

SN: 6135	914.006	916.006	917.006	937.006	921.006	922.006	923.006
Filter Type	**Blank A 0**	**Sample 260 nm**	**Sample 280 nm**	**Sample 800 nm**	**Sample A 1**	**Sample A 2**	**Sample A 3**
Limiting values (A)/Grenzwerte (E)							
260 nm	0.000	1.291-1.499	--	--	0.197-0.221	1.078-1.101	1.857-1.888
280 nm	0.000	--	1.041-1.287	--	0.193-0.217	1.024-1.047	1.717-1.749
320 nm	0.000	--	--	--	0.173-0.196	0.923-0.947	1.478-1.509
405 nm	0.000	--	--	--	0.161-0.184	0.903-0.926	1.429-1.461
550 nm	0.000	--	--	--	0.172-0.195	0.930-0.959	1.487-1.526
562 nm	0.000	--	--	--	0.172-0.195	0.941-0.968	1.496-1.530
595 nm	0.000	--	--	--	0.172-0.195	0.943-0.969	1.503-1.538
700 nm	0.000	--	--	--	0.169-0.192	0.935-0.984	1.517-1.570
800 nm	0.000	--	--	0.958-1.124	0.168-0.191	0.931-0.983	1.502-1.561
		Random error of wavelength Zufällige Messabweichung der Wellenlänge			Random error of photometer Zufällige Messabweichung des Photometers		
Limiting values CV (%)/Grenzwerte VK (%)							
260 - 405 nm		≤ 3.0 %			≤ 3.0 %	≤ 2.0 %	≤ 1.5 %
550 - 800 nm		≤ 3.0 %			≤ 3.0 %	≤ 2.0 %	≤ 3.0 %

Wavelength and photometric accuracy/Wellenlängen- und photometrische Richtigkeit
traceable to/rückführbar auf
NIST SRM 2034, SN 04-A und SN 667

Wavelength and photometric characterization of filters:
All characterization is performed on a Cary 100 Bio reference UV-Vis spectrophotometer, SN EL 99023107.
The instrument is requalified regularly by the manufacturer, and is confirmed and documented to perform within manufacturer's specifications. The current instrument qualification is valid through April 2015.
For the current instrument qualification, the following, NIST traceable, certified secondary spectrometric calibration standards were used:

Wellenlängen- und photometrische Bestimmung der Filter:
Alle Messungen werden auf einem Cary 100 Bio Referenz-UV-Vis-Spektrophotometer, Seriennummer EL99023107 durchgeführt.
Dieses Instrument wird regelmäßig vom Hersteller requalifiziert und die spezifikationsgemäße Funktion dokumentiert.
Die aktuelle Qualifizierung ist bis April 2015 gültig und verwendet folgende, NIST-rückführbare und zertifizierte, spektrometrische Sekundärstandards:

Starna RM-0660HLKCSITX
Hellma 666-F1, 666-F2, 666-F3, 666-F4
SRM 2031a: SN 667, valid through/gültig bis 12/2014

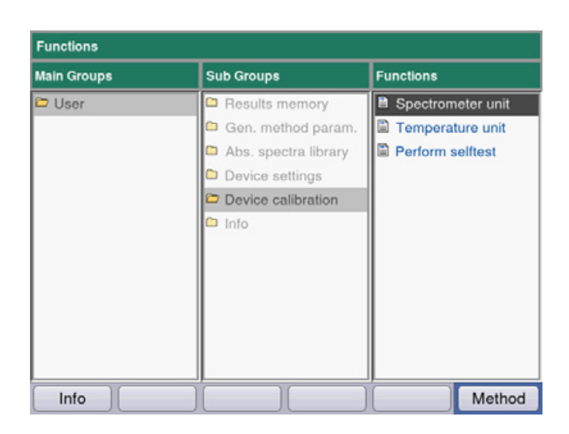
The valid certificates are part of the requalification documentation.
Die Gültigkeitszertifikate sind Teil der Qualifizierungsdokumentation.

6135 928.028-00

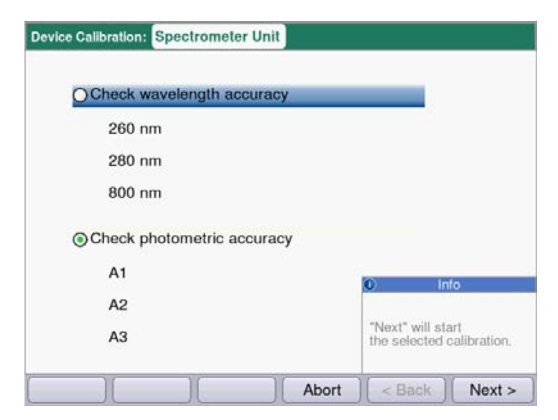
Please protect against dust, heat, cold and liquid. The limits are valid for max. 2 years. Bitte vor Staub, Hitze, Kälte und Flüssigkeiten schützen. Die Grenzwerte gelten für max. 2 Jahre.	Date Datum	Signature Unterschrift

Abb. 8-1: Deckel-Innenseite des Filterkastens (Muster)

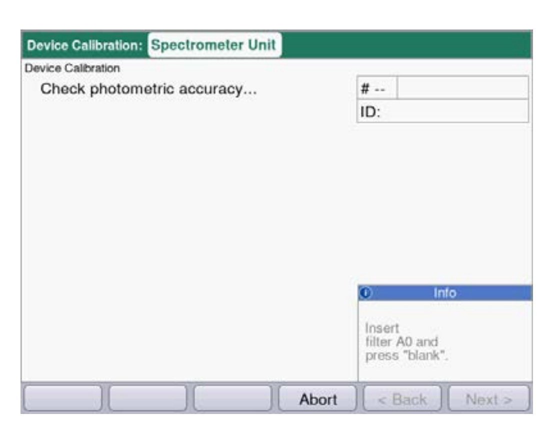
8.3.1.1 Photometrische Richtigkeit überprüfen



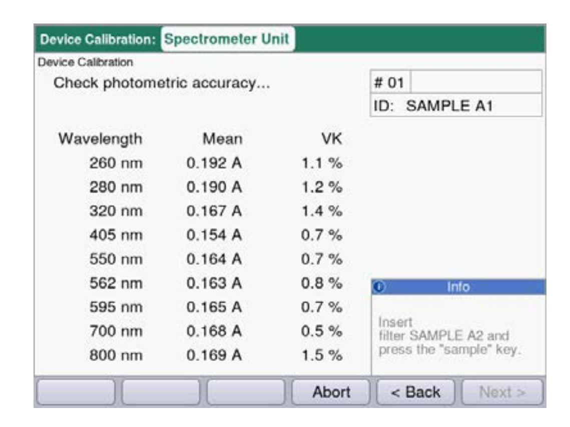
1. Wählen Sie in der Gruppe **Device calibration** die Funktion **Spectrometer unit** und bestätigen Sie mit **enter.**



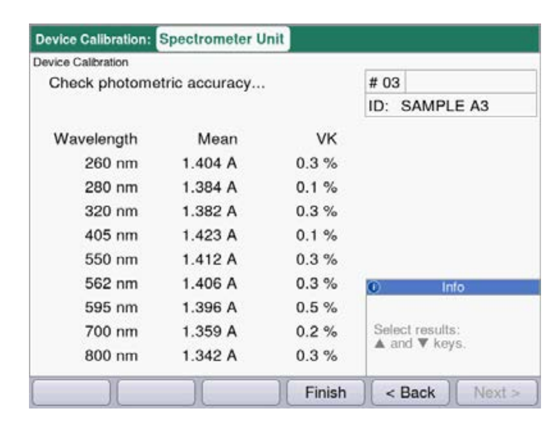
2. Wählen Sie aus, ob Sie die Wellenlängenrichtigkeit oder die Photometrische Richtigkeit überprüfen wollen und bestätigen Sie mit **enter**. Wechseln Sie mit [Next >] zur Messung.



3. Folgen Sie den Anweisungen in der Geräteanzeige und messen Sie zunächst das Leerwertfilter A0 und danach das erste Prüffilter A1.
   Das Gerät misst das Prüffilter 15-mal bei 9 Wellenlängen und zeigt anschließend die Mittelwerte sowie die VK-Werte der Messreihe für alle 9 Wellenlängen an.



4. Ergebnisanzeige nach Messung eines Prüffilters zum Test auf Photometrische Richtigkeit.
   Messen Sie die beiden anderen Prüffilter A2 und A3.



5. Ergebnisanzeige nach Messung aller 3 Prüffilter zum Test auf Photometrische Richtigkeit.
   Mit den Tasten ▲ und ▼ können Sie sich nochmals die Ergebnisse für die verschiedenen Prüffilter ansehen. Mit [Finish] beenden sie die Prüfung.

6. Vergleichen Sie die Mittelwerte und VK-Werte mit der mitgelieferten Tabelle.
   Sollten die gemessenen Werte nicht mit dem zulässigen Wertebereich übereinstimmen, wenden Sie sich an den Eppendorf Service.

Lassen Sie die Filter nach 2 Jahren vom Eppendorf Service neu zertifizieren.

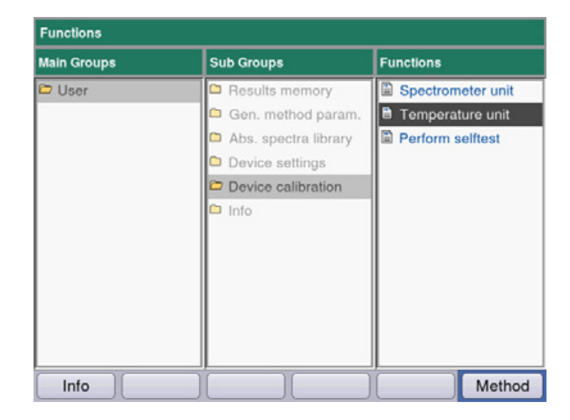
8.3.1.2 Wellenlängenrichtigkeit überprüfen

- Für die Überprüfung der Wellenlängenrichtigkeit verfahren Sie entsprechend: Hier messen Sie mit 3 Prüffiltern bei der entsprechenden Wellenlänge.

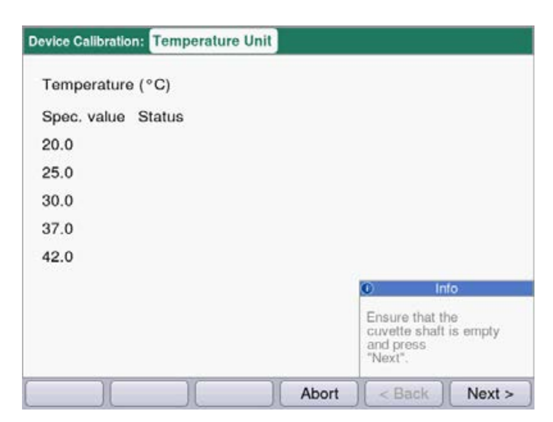
8.3.2 Temperiereinheit überprüfen



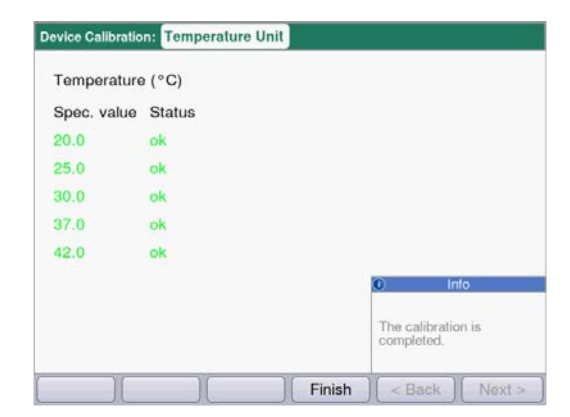
- Prüfung bei ca. 20 °C durchführen.
- Sicherstellen, dass der Küvettenschacht bei der Prüfung leer ist.



1. Wählen sie in der Gruppe **Device calibration** die Funktion **Temperature unit** und bestätigen Sie mit **enter**.



2. Stellen Sie sicher, dass der Küvettenhalter leer ist, und starten sie den Prüfablauf mit [Next >]. Die folgende Prüfung der Temperierung bei 5 Temperaturen dauert ca. 30 Minuten. Während der Prüfung wird die geschätzte Restdauer angezeigt.



3. Ergebnisanzeige nach Abschluss der Prüfung. Ein positives Ergebnis der Prüfung wird durch "ok" hinter dem Temperaturwert angezeigt. Sollte bei mindestens einer Temperatur als Ergebnis "failed" angezeigt werden, wenden Sie sich bitte an den Eppendorf Service.

8.3.3 Selbsttest des Geräts

Die Häufigkeit des automatischen Selbsttests (Dauer ca. 1 Minute) können Sie mit der Funktion **Device settings** einstellen (siehe *Device Settings auf S. 74)*. Ab Werk ist als **Selbsttest-Intervall** "wöchentlich" eingestellt.

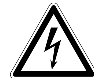
Beim Selbsttest werden die folgenden Punkte überprüft:

- Überprüfung des Detektors
  - Bestimmung der zufälligen Messabweichung über das gesamte verfügbare Spektrum
- Überprüfung der Lichtquelle
  - Überprüfung der maximal verfügbaren Energie der Lichtquelle und der Qualität der Lichtleitung durch das Gerät
  - Bestimmung der zufälligen Messabweichung eines Signals am Referenzsensor
  - Bestimmung der Signalhöhe am Referenzsensor
  - Separate Bestimmung der Lichtintensität im UV-Bereich
- Bestimmung der systematischen und zufälligen Messabweichung der Wellenlänge
  - Position eines Intensitätspeaks im UV-Bereich des Spektrums
  - Präzision der Position eines Intensitätspeaks im UV-Bereich des Spektrums
- Zufällige Messabweichung des Temperatursensors
- Prüfung der Temperierrate

▸ Wählen Sie in der Gruppe **Device calibration** die Funktion **Perform selftest** und bestätigen Sie mit **enter.**

Nach Ablauf des Selbsttest zeigt das Display die Meldung **PASSED**.
Wenn das Display die Meldung **FAILED** zeigt, ist der Selbsttest fehlgeschlagen. Wenn sich dieser Fehler nicht beheben lässt (siehe *Fehlermeldungen auf S. 91)*, wenden Sie sich an den Eppendorf-Service.

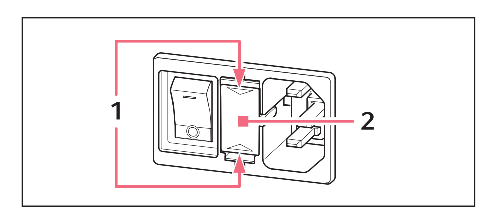
8.4 Sicherungen ersetzen

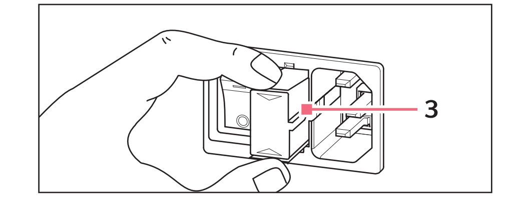


GEFAHR! Stromschlag.

▸ Schalten Sie das Gerät aus und ziehen Sie den Netzstecker, bevor Sie mit der Wartung bzw. Reinigung beginnen.

Der Sicherungshalter befindet sich zwischen der Netzanschlussbuchse und dem Netzschalter.





1. Ziehen Sie den Netzstecker.
2. Drücken Sie die Kunststofffedern **1** oben und unten zusammen und ziehen Sie den Sicherungshalter **2** vollständig heraus.
3. Ersetzen Sie defekte Sicherungen und setzen Sie den Sicherungshalter wieder ein. Achten Sie auf die korrekte Position der Führungsschiene **3**.

8.5 Dekontamination vor Versand

Wenn Sie das Gerät im Reparaturfall zum autorisierten Technischen Service oder im Entsorgungsfall zu Ihrem Vertragshändler schicken, beachten Sie Folgendes:



WARNUNG! Gesundheitsgefahr durch kontaminiertes Gerät.

1. Beachten Sie die Hinweise der Dekontaminationsbescheinigung. Sie finden diese als PDF-Datei auf unserer Internetseite (www.eppendorf.com/decontamination).
2. Dekontaminieren Sie alle Teile, die Sie versenden.
3. Legen Sie der Sendung die vollständig ausgefüllte Dekontaminationsbescheinigung bei.

9 Problembehebung

9.1 Allgemeine Fehler

Fehler	Mögliche Ursache	Abhilfe
Messergebnisse sind unpräzise.	• Haltbarkeit des Reagenzes überschritten.	▶ Stellen Sie sicher, dass das Reagenz noch haltbar ist und richtig vorbereitet wird.
	• Reagenz nicht richtig vorbereitet.	▶ Benutzen Sie für die Vorbereitung – sofern benötigt – sauberes, demineralisiertes Wasser von ausreichender Qualität.
	• Pipettierung nicht richtig.	▶ Stellen Sie sicher, dass die Pipette kalibriert ist und richtig pipettiert.
	• Ablauf der Inkubation vor der Messung nicht richtig.	▶ Sofern der Methodenablauf vor der Messung eine Inkubation erfordert, stellen Sie sicher, dass die Temperatur und Zeit für die Inkubation korrekt eingehalten werden.
	• Küvette verschmutzt.	▶ Reinigen und spülen Sie die Küvette. Achten Sie bei einem Küvettenwechsel darauf, dass das optische Fenster der Küvette sauber bleibt und nicht mit den Fingern berührt wird. ▶ Wenn das Küvettenfenster durch Fingerabdrücke verschmutzt ist, reinigen Sie es durch Abwischen mit einem fusselfreien Labortuch, das mit Ethanol oder Isopropanol getränkt ist.
	• Küvette nicht vollständig und blasenfrei mit Messlösung befüllt.	▶ Stellen Sie sicher, dass das erforderliche Mindestvolumen der Küvette für eine Messung erreicht wird und dass keine Blasen in der Messlösung sind.
	• Trübungen in der Messlösung.	▶ Zentrifugieren Sie trübe, partikelhaltige Messlösungen und benutzen Sie den klaren Überstand.
	• Spektralphotometer driftet.	▶ Wenden Sie sich an den Eppendorf-Service. ▶ Halten Sie die Umgebungsbedingungen ein. ▶ Vermeiden Sie Temperaturschwankungen.
	• Küvettenschacht verschmutzt.	▶ Reinigen Sie den Küvettenschacht.

Fehler	Mögliche Ursache	Abhilfe
Messergebnisse sind unrichtig.	• Methode falsch programmiert.	▶ Stellen Sie sicher, dass die Methodenparameter richtig eingegeben sind.
	• Standardlösung nicht richtig vorbereitet.	▶ Stellen Sie sicher, dass der richtige Standard benutzt wird und die Messlösung für den Standard richtig vorbereitet wird.
	• Extinktion des Reagenz driftet.	▶ Bei instabiler Reagenzextinktion und Endpunkt-Methoden: Messen Sie bei der Messung einer langen Probenserie den Reagenzleerwert nicht nur zu Beginn, sondern auch während der Probenserie. Bei stärkerer Drift des Reagenzleerwerts ist das Reagenz nicht geeignet für fehlerfreie Messungen und muss durch neues Reagenz ersetzt werden.
	• Die Küvette ist nicht richtig positioniert.	▶ Positionieren Sie die Küvette so im Küvettenschacht, dass die optischen Fenster in Lichtwegrichtung zeigen. ▶ Lichtweg Photometrie: von hinten nach vorn

9.2 Fehlermeldungen

Geräteanzeigen mit Fehlermeldungen können Sie mit dem Softkey [OK] verlassen.

Systemfehler erfordern eine Beurteilung durch den Technischen Service. Diese Fehler werden in Englisch dargestellt **(System error ...)**. Bitte wenden Sie sich in diesen Fällen an den Technischen Service. Andere Fehlermeldungen, bei denen Sie selbst Maßnahmen ergreifen können, sind in der folgenden Tabelle erläutert.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Selbsttest fehlgeschlagen.	• Küvettenschachtabdeckung war beim Selbsttest offen. • Der Küvettenschacht war beim Selbsttest nicht leer.	▸ Wiederholen Sie den Selbsttest mit leerem Küvettenschacht und geschlossener Küvettenschachtabdeckung.
	• Gerät ist defekt.	▸ Wenden Sie sich an den Eppendorf-Service.
Die Datei konnte nicht exportiert werden.	Beim Export von Daten: • USB-Stick falsch formatiert oder defekt. • USB-Stick zu früh (während des Exports) aus dem Gerät entfernt.	▸ USB-Stick neu formatieren oder ersetzen. ▸ USB-Stick erneut anschließen und Export wiederholen.
Der Drucker konnte nicht initialisiert werden.	• Drucker nicht angeschlossen oder ausgeschaltet. • Drucker falsch konfiguriert.	▸ Drucker anschließen und anschalten. ▸ Drucker neu konfigurieren. Die Druckereinstellungen zur richtigen Konfiguration finden Sie in der Installationsbeschreibung (siehe *Drucker am USB-Anschluss anschließen auf S. 20*).
Blank-Messung: Eine Intensität an einem eine Haupt- oder Neben- oder Scanwellenlänge beeinflussenden Pixel ist zu niedrig.	• Die für die Blank-Messung benutzte Leerwertlösung hat eine zu hohe Extinktion. • Falsche oder trübe Leerwertlösung. • Bei Scans: Wellenlängenbereich zu groß, da die Probe in einem Teil des Wellenlängenbereichs sehr stark absorbiert.	▸ Leerwertlösung überprüfen und Blank ggf. neu messen. ▸ Bei Scans: Wellenlängenbereich an Spektrum der Probe anpassen.
Der eingegebene Name ist nicht gültig.	• Fehler bei der Eingabe von Namen. Verschiedene Ursachen sind möglich. Zur konkreten Ursache bitte die Information in der Hilfebox beachten.	▸ Siehe Information in der Hilfebox.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Es existiert bereits eine Methode (oder ein Ordner, Dye, Protein, Nucleic acid, Unit) mit diesem Namen.	• Der Name, unter dem die Methode abgespeichert werden soll, wurde bereits für eine andere Methode in demselben Ordner verwendet. • Die Meldung erscheint auch, wenn bereits vergebene Namen für einen Ordner oder (unter **General Method Parameter)** für eine Nukleinsäure (Farbstoff, Protein, Konzentrationseinheit) editiert wurden.	▸ Anderen Namen vergeben.
Folgende Parameterwerte sind in **General Method Parameter** nicht definiert:	• Beim Öffnen einer Methode, deren Parameter auf **General Method Parameter** zurückgreift, wurde festgestellt, dass mindestens ein Parameter (Farbstoff, Nukleinsäure, Protein, Einheit) dort nicht mehr existiert, also vermutlich gelöscht wurde.	▸ Wählen Sie einen anderen Parameter aus der vorhandenen Liste. Falls erforderlich, programmieren Sie in **General Method Parameter** einen neuen Listeneintrag, um bei der Programmierung einer Methode darauf zurückgreifen zu können.
Der Wert des mit * markierten Parameters ist nicht in den Gen. Meth. Param. definiert. Bitte korrigieren Sie den Parameter.	Diese Fehlermeldung erscheint beim Editieren von Methodenparametern. • Parameter in **General Method Parameter** ist nicht definiert.	▸ Wählen Sie einen anderen Parameter aus der vorhandenen Liste. Falls erforderlich, programmieren Sie in **General Method Parameter** einen neuen Listeneintrag, um bei der Programmierung einer Methode darauf zurückgreifen zu können.
Ungültiges Zoom-Intervall.	Beim Zoom-Vorgang mit freier Eingabe der Grenzen (Softkey [Free]): • Die Untergrenzen für den Zoombereich wurden unterschritten.	▸ Werte so eingeben, dass das Intervall nicht die Berreichsgrenzen von 0,02 A und 10 nm unterschreitet.
Die eingegebenen Standardkonzentrationen sind nicht monoton steigend bzw. monoton fallend. Bitte Standardkonzentrationen korrigieren.	• Siehe Fehlertext.	▸ Die Standardkonzentrationen so eingeben, dass der erste Standard die niedrigste Konzentration erhält und die weiteren Standardkonzentrationen eine aufsteigende Folge bilden.
Mindestens zwei eingegebene Standardkonzentrationen sind gleich. Bitte Standardkonzentrationen korrigieren.	• Siehe Fehlertext.	▸ Die Standardkonzentrationen so eingeben, dass der erste Standard die niedrigste Konzentration erhält und die weiteren Standardkonzentrationen eine aufsteigende Folge bilden.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Die Messwerte sind nicht streng monoton!	• Fehler bei der Messung einer Standardreihe: Die gemessenen Extinktionswerte der Standardreihe sind nicht kontinuierlich steigend oder fallend.	▶ Standardmessungen wiederholen oder einzelnes, fehlerhaft gemessenes Standardergebnis löschen.
Die ID kann nicht gesetzt werden.	• Fehler bei der Eingabe der Proben-ID. Verschiedene Ursachen sind möglich. Zur konkreten Ursache bitte die Information in der Hilfebox beachten.	▶ Siehe Information in der Hilfebox.
Die Verdünnung kann nicht gesetzt werden.	• Fehler bei der Eingabe der Verdünnung. Verschiedene Ursachen sind möglich. Zur konkreten Ursache bitte die Information in der Hilfebox beachten.	▶ Siehe Information in der Hilfebox.
Berechnung ist nicht möglich, weil durch Null geteilt wird. Extinktionsergebnis oder Parameter Formula "b" ist Null.	• Bei der Auswertung einer Methode des Typs **Division** (Methodengruppe **Dual wavelength)** musste durch ein Extinktionsergebnis mit dem Wert "Null" geteilt werden. Das ist mathematisch nicht zulässig.	▶ Überprüfen Sie die verwendeten Reagenzien und Proben und wiederholen Sie die Messung. ▶ Geben Sie als Wert für den Parameter Formula **b** nicht "Null" ein.
Es kann nur noch eine Messung in dieser Messreihe durchgeführt werden. Die maximale Anzahl an Messungen in einer Messreihe ist erreicht.	• Die Zahl an Messungen in einer Messreihe ist auf 99 begrenzt.	▶ Nach maximal 99 Messungen eine neue Messreihe starten.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Ungültiges Zoom-Intervall!	Fehler im Methodenschritt **process results** im Zoom-Modus. Zulässiger Zoom-Bereich für die Wellenlängenskala: • Wellenlängenintervall mindestens 10 nm • Eingaben für Wellenlängen nur innerhalb des für die Methode in den Parametern programmierten Bereichs. Zulässiger Zoom-Bereich für die Extinktionsskala: • Extinktionsintervall mindestens 0,02 A • Ober- und Untergrenze für Extinktionsintervall +3 A bzw. –3 A	▶ Beachten Sie beim Zoom-Ablauf die genannten Grenzen.
Gerätekonfiguration wurde von … auf … geändert.	• Ein BioSpectrometer kinetics wird nicht als Kinetikvariante, sondern als BioSpectrometer basic erkannt. Die Kinetikmethoden werden daher nicht angezeigt.	▶ Gerät aus- und wieder einschalten. Tritt der Fehler erneut auf: Technischen Service benachrichtigen.
Die Temperierung ist defekt. Bitte programmieren Sie die Methode ohne Temperierung oder brechen Sie die Methode ab.	• Die Temperierung des Gerätes ist defekt.	▶ Wenden Sie sich an den Eppendorf Service. Vor Reparatur der Temperierung verwenden Sie nur Methoden, für die keine Temperierung programmiert ist.
Die Umgebungstemperatur ist zu hoch.	Bei Kinetikmethoden mit Temperierung: • Die vom Gerät gemessene Umgebungstemperatur liegt oberhalb des spezifizierten Bereichs.	▶ Stellen sie sicher, dass die Umgebungstemperatur in dem Bereich liegt, der für den Betrieb des Gerätes spezifiziert ist.
Lineare Regression konnte nicht auf alle Messungen angewendet werden.	• Bei Kinetikmethoden wurde im Methodenschritt **process results** das Zeitfenster für die Auswertung mit linearer Regression verändert und die Veränderung sollte auf alle Messergebnisse ausgedehnt werden. Die erforderliche Anzahl der Messpunkte war aber bei mindestens einem Probenergebnis nicht vorhanden.	▶ Verändern Sie im Methodenschritt **process results** das Zeitfenster für die Auswertung mit linearer Regression nur für die Proben, für die ausreichend Messpunkte vorhanden sind.

9.3 Ergebniskennzeichnungen

Warnungen und Fehlermeldungen zu Ergebnissen erscheinen in der Hilfebox unten rechts im Display. Bei Warnungen ist die Kopfzeile der Hilfebox gelb unterlegt, bei Fehlermeldungen rot.

Warnungen: Entscheiden Sie unter Berücksichtigung der angezeigten Warnung, ob das Ergebnis für Sie nutzbar ist.

Fehlermeldungen: Es wird kein Ergebnis dargestellt; die Begründung wird in der Fehlermeldung angezeigt.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Standardkurve ist nicht monoton. Bitte anderen Curve Fit wählen.	• Bei Auswertung einer Standardkurve mit den **Curve Fit**-Verfahren "spline interpolation", "quadratical regression" oder "cubical regression" wurde kein verwertbares Ergebnis erhalten.	▸ Anderes **Curve Fit**-Verfahren wählen.
Einige Extinktionswerte bei Nebenwellenlängen sind zu hoch und werden nicht angezeigt.	• Bei mindestens einer Nebenwellenlänge war die Extinktion oberhalb des Messbereichs. • Nebenwellenlängen werden nicht für die Berechnung des Konzentrationsergebnisses herangezogen, sondern für andere Zwecke benutzt. Z. B. Methode **dsDNA:** Extinktion bei 280 nm für die Berechnung von **Ratio 260/280**. • Trübungen in der Messlösung • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs.	▸ Wenn die Extinktionswerte der Nebenwellenlängen relevant sind: Probe verdünnen bzw. durch Zentrifugation Trübung beseitigen und Messung wiederholen.
Das Ergebnis liegt außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen.	• Bei Methoden mit Auswertung über Standardkurven (nichtlineare Auswerteverfahren): Das Probenergebnis liegt um bis zu 5 % außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen.	▸ Messergebnis akzeptieren oder Probe unter Bedingungen neu messen, bei denen das Ergebnis im Bereich der Standardkonzentrationen liegt (Probe verdünnen oder Standardkonzentrationen verändern und neu messen).

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Das Bestimmtheitsmaß ist < 0,8.	• Bei Methoden mit Auswertung von Standardreihen über Regressionsverfahren: Das Bestimmtheitsmaß für die Regressionsauswertung deutet auf eine erhebliche Abweichung der Messpunkte von der Regressionsgeraden hin. • Trübungen in der Messlösung. • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs.	▶ Ergebnis der Standardauswertung akzeptieren oder Standards neu messen. ▶ Auf klare Messlösungen achten.
Das Bestimmtheitsmaß für die Regressionsauswertung der Standardreihe ist < 0,8.	• Bei Methoden mit Auswertung von Standardreihen über Regressionsverfahren: Warnung erscheint nach Messungen von Proben, wenn die Regressionsauswertung für die Standardreihe nichtlinear war, die Standardauswertung aber vom Anwender akzeptiert wurde.	▶ Probenergebnisse unter dem genannten Vorbehalt verwenden oder Standardreihe und Proben neu messen.
Scan: Einige gemessene Extinktionen sind zu hoch und werden nicht angezeigt.	• Bei mindestens einer Wellenlänge des Scans war die Extinktion oberhalb des Messbereichs. • Trübungen in der Messlösung. • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs.	▶ Wenn die nicht angezeigten Bereiche des Scans relevant sind: Probe verdünnen bzw. durch Zentrifugation Trübung beseitigen und Messung wiederholen.
Messung nicht vollständig.	• Kinetikverfahren: Sie haben die Messung mit dem Softkey [Stop] vorzeitig abgebrochen. Wenn mindestens 2 Messpunkte vorliegen, wird ein Ergebnis berechnet und angezeigt.	▶ Messergebnis mit reduzierter Messzeit akzeptieren oder neu mit längerer Messzeit messen.
Die Kinetik ist nichtlinear: Bestimmtheitsmaß ist < 0,95.	• Kinetikverfahren mit Messverfahren "lineare Regression": Das Bestimmtheitsmaß für die Regressionsauswertung deutet auf eine erhebliche Abweichung der Messpunkte von der Regressionsgeraden hin. • Trübungen in der Messlösung. • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs. • Zu hohe Aktivitätskonzentration des Enzyms.	▶ Messergebnis akzeptieren oder Probe neu messen. Vor der Neumessung die Ursache für die Nichtlinearität bewerten und berücksichtigen (z. B. Messlösung durch Zentrifugation klären oder Probe verdünnen).

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Die Kinetik ist für mindestens einen Standard nichtlinear: Bestimmtheitsmaß ist <0,95.	• Kinetikverfahren mit Messverfahren "lineare Regression"und Auswerteverfahren über Standards: Das Bestimmtheitsmaß für die Regressionsauswertung mindestens einer Standardmessung deutet auf eine erhebliche Abweichung der Messpunkte von der Regressionsgeraden hin. • Trübungen in der Messlösung. • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs. • Zu hohe Aktivitätskonzentration des Enzyms.	▶ Messergebnis akzeptieren oder Standard neu messen. Vor der Neumessung die Ursache für die Nichtlinearität bewerten und berücksichtigen (z. B. Messlösung durch Zentrifugation klären oder Standard mit niedriger Konzentration benutzen).
Die Temperatur lag während der Kinetikmessung außerhalb des zulässigen Bereichs.	• Umgebungstemperatur außerhalb des spezifizierten Bereichs. • Temperierung defekt.	▶ Probe bei Umgebungstemperatur innerhalb des spezifizierten Bereichs (15 °C bis 35 °C) messen. Wenn die Warnung dennoch auftritt, wenden Sie sich an den Eppendorf Service.
Extinktion bei der Messwellenlänge ist zu hoch.	• Trübungen in der Messlösung. • Optische Flächen der Küvette verschmutzt. • Küvette in falscher Orientierung in den Küvettenschacht gesteckt. • Zu hohe Extinktion der Messlösung.	▶ Unter Berücksichtigung der möglichen Ursachen neu messen.
Das berechnete Ergebnis ist negativ.	• Messlösung falsch angesetzt. • Faktor falsch eingegeben (falsches Vorzeichen).	▶ Unter Berücksichtigung der möglichen Ursachen neu messen.
Mindestens eines der Ergebnisse ist negativ.	• Bei Methoden mit mehreren Ergebnissen (z. B. **Dye labels**). • Messlösung falsch angesetzt. • Faktor falsch eingegeben (falsches Vorzeichen).	▶ Unter Berücksichtigung der möglichen Ursachen neu messen.
Ergebnis hat mehr als 6 Vorkommastellen.	• Sehr hohe Probenkonzentration. • Konzentrationseinheit passt nicht zu dem erwarteten Bereich der Probenkonzentrationen.	▶ Probe verdünnen und neu messen. ▶ Konzentrationseinheit (Parameter **Unit**) ändern und neu messen.
Das Ergebnis liegt um mehr als 5 % außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen.	• Bei Methoden mit Auswertung über Standardkurven (nichtlinearen Auswerteverfahren): Das Probenergebnis liegt um mehr als 5 % außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen.	▶ Probe unter Bedingungen neu messen, unter denen das Ergebnis im Bereich der Standardkonzentrationen liegt (Probe verdünnen, Standardkonzentrationen verändern und neu messen).

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
• Berechnung ist nicht möglich, weil durch Null geteilt wird. Extinktionserge bnis ist Null. • Fehler bei der Berechnung. Division durch Null.	• Bei der Auswertung musste durch ein Extinktionsergebnis mit dem Wert "Null" geteilt werden. Das ist mathematisch nicht zulässig. Beispiele: Berechnung eines Faktors bei Einpunktkalibrierung; Berechnung einer Ratio 260/280 bei Nukleinsäuremessungen.	▸ Überprüfen Sie die verwendeten Reagenzien und Proben und wiederholen Sie die Messung.
Berechnung ist nicht möglich, weil durch Null geteilt wird. Extinktionsergebnis oder Parameter Formula **b** ist Null.	• Bei der Auswertung einer Methode des Typs **Division** (Methodengruppe **Dual wavelength)** musste durch ein Extinktionsergebnis mit dem Wert "Null" geteilt werden. Das ist mathematisch nicht zulässig.	▸ Überprüfen Sie die verwendeten Reagenzien und Proben und wiederholen Sie die Messung. ▸ Geben Sie als Wert für den Parameter Formula **b** nicht "Null" ein.

10 Transport, Lagerung und Entsorgung

10.1 Transport

- Verwenden Sie die Originalverpackung für den Transport.

	Lufttemperatur	**Relative Luftfeuchte**	**Luftdruck**
Allgemeiner Transport	-25 °C – 60 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa
Luftfracht	-40 °C – 55 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa

10.2 Lagerung

	Lufttemperatur	**Relative Luftfeuchte**	**Luftdruck**
in Transportverpackung	-25 °C – 55 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa
ohne Transportverpackung	-5 °C – 45 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa

10.3 Entsorgung

Bei einer Entsorgung des Produkts sind die einschlägigen gesetzlichen Vorschriften zu beachten.

Hinweise zur Entsorgung von elektrischen und elektronischen Geräten in der Europäischen Gemeinschaft:

Innerhalb der Europäischen Gemeinschaft wird die Entsorgung von elektrischen Geräten durch nationale Vorschriften geregelt, die auf der EU-Richtlinie 2012/19/EU über Elektro- und Elektronik-Altgeräte (WEEE) basieren.

Nach diesen Vorschriften dürfen alle nach dem 13. August 2005 gelieferten Geräte im Business-to-Business-Bereich, in den dieses Produkt einzuordnen ist, nicht mehr im kommunalen Abfall oder Hausmüll entsorgt werden. Um dies zu dokumentieren, sind sie mit folgendem Symbol gekennzeichnet:



Da sich die Entsorgungsvorschriften innerhalb der EU von Land zu Land unterscheiden können, bitten wir Sie, sich bei Bedarf bei Ihrem Lieferanten zu informieren.

11 Technische Daten

11.1 Stromversorgung

Spannungsversorgung	100 V bis 240 V ±10 %, 50 Hz bis 60 Hz
Überspannungskategorie	II
Verschmutzungsgrad	2
Leistungsaufnahme	Maximal auftretende Leistung laut Typenschild: 50 W Ca. 30 W im Bedienablauf Ca. 5 W mit gedimmtem Display und ausgeschalter Temperierung
Zulässige Netzunterbrechung	Ca. 10 ms bei 90 V Ca. 20 ms bei 230 V
Schutzklasse	I
Sicherungen	T 2,5 A/250 V, 5 mm × 20 mm (2 Stück)

11.2 Umgebungsbedingungen

Betrieb	Umgebungstemperatur: 15 °C bis 35 °C Rel. Luftfeuchte: 25 % bis 70 % Luftdruck: 86 kPa bis 106 kPa
Luftdruck	Verwendung bis zu einer Höhe von 2000 m über Meereshöhe

Vor direktem Sonnenlicht schützen.

11.3 Gewicht/Maße

Gewicht	5,3 kg
Abmessungen	Breite: 295 mm Tiefe: 400 mm Höhe: 150 mm
Benötigter Raum	Breite: 500 mm (mit Thermodrucker: 750 mm) Tiefe: 500 mm

11.4 Photometrische Eigenschaften

Messprinzip	Absorptions-Einstrahlspektralphotometer mit Referenzstrahl
Lichtquelle	Xenon-Blitzlampe
Spektrale Zerlegung	Holographisches Aberations-korrigiertes Konkavgitter
Strahlungsempfänger	CMOS Photodiodenarray
Wellenlängen	200 nm bis 830 nm
Wellenlängenwahl	Methodenabhängig, frei wählbar
Spektrale Bandbreite	≤ 4 nm
Kleinste Schrittweite	1 nm
Systematische Messabweichung der Wellenlänge	±1 nm
Zufällige Messabweichung der Wellenlänge	≤ 0,5 nm
Photometrischer Messbereich	0 A bis 3,0 A bei 260 nm
Ablesegenauigkeit	ΔA = 0,001
Zufällige Messabweichung des Photometers	≤ 0,002 bei A = 0 ≤ 0,005 (0,5 %) bei A = 1
Systematische Messabweichung des Photometers	±1 % bei A = 1
Falschlichtanteil	< 0,05 %

11.5 Temperierung

Einstellbarer Temperaturbereich	20 °C bis 42 °C
Kleinste Schrittweite	0,1 °C
Maximale Temperaturunsicherheit (bezogen auf die Temperatur in der Probe)	(siehe Tab. 5-1 auf S. 32)
Systematische Messabweichung der Temperatur	±0,2 °C bei 25 °C bis 37 °C
Zufällige Messabweichung der Temperatur	±0,15 °C bei 25 °C bis 37 °C

11.6 Weitere technische Parameter

Küvettenmaterial	Für Messungen im UV: Quarzglas oder UV-transparenter Kunststoff (UVette von Eppendorf, 220 nm bis 1600 nm) Für Messungen im sichtbaren Bereich: Glas oder Kunststoff
Küvettenschacht	12,5 mm × 12,5 mm, temperiert
Gesamthöhe der Küvetten	Mind. 36 mm
Höhe des Lichtstrahls in der Küvette	8,5 mm
Tastatur	22 Folientasten 6 Folientasten als Softkeys
Ergebnisausgabe	Extinktion, Konzentration, Scan (Extinktions-Wellenlängen-Spektrum) Methodenabhängig weitere Zusatzdaten (Ratio, FOI, Background-Extinktionen)
Display	VGA TFT-Display 5,7”
Sprachen für Bedienerführung	Englisch, Französisch, Spanisch, Italienisch, Deutsch
Schnittstellen	USB Master: Für USB-Stick und Thermodrucker DPU-S445 USB Slave: Für Verbindung mit einem PC Serielle Schnittstelle RS 232: Für Thermodrucker DPU-414 Ethernet-Schnittstelle RJ45: Für Verbindung mit einem Netzwerk Angeschlossene Geräte müssen den Sicherheitsanforderungen gemäß IEC 60950-1 entsprechen.

11.7 Anwendungsparameter

Methoden	Vorprogrammierte und frei programmierbare Methoden für alle Mess- und Auswerteverfahren: • Extinktionsmessungen bei einer oder mehreren Wellenlängen, Scans • Nukleinsäuren und Proteine, OD600, Dye-Methoden (parallele Messung von Biomolekül und Farbstoff-Markierung) • Methoden mit Auswertung über Faktor, Standard und Standardreihe • Zweiwellenlängen-Verfahren mit Subtraktions- und Divisionsauswertung • Kinetikverfahren: Endpunkt, Zweipunkt, Lineare Regression
Methodenabhängige Auswertung	Extinktion, Konzentration über Faktor und Standard. Konzentration über Standardreihe: • Lineare Regression • Nichtlineare Regression (Polynom 2. und 3. Grades) • Spline-Auswertung • Lineare Interpolation (Punkt-zu-Punkt Auswertung) Extinktionsverrechnungen über Subtraktion und Division Zusatzdaten für Nukleinsäuren: Ratio 260/280 und 260/230; Molare Konzentration, Gesamtausbeute Zusatzdaten für Dye-Methoden: FOI (Frequency of incorporation, Markierungsdichte) Scans: Zoom, Peak-Auswertung Kinetiken: Nachträgliche Modifizierung des Zeitfensters für die Regressionsauswertung
Methodenspeicher	> 100 Methodenprogramme
Messwertspeicher und Kalibrationsspeicher	Speicher für > 1 000 Ergebnisse mit allen Daten der Ergebnis- und Standardauswertung, Probennummer, Probenname, Datum und verwendetem Parametersatz des Methodenprogramms (Die Anzahl der gespeicherten Ergebnisse ist abhängig von der Anzahl der gespeicherten Methoden.)

12 Auswerteverfahren

Dieses Kapitel beschreibt die in den Methodenprogrammen verfügbaren Auswerteverfahren sowie die Berechnung einer Verdünnung durch die Geräte-Software.



Beachten Sie beim Vergleich von Messergebnissen mit den Ergebnissen anderer Photometer/ Spektralphotometer, dass die Werte von der Bandbreite der Geräte abhängen können. In den folgenden Fällen können die Unterschiede erheblich sein:

- Das Extinktionsspektrum weist bei der Messwellenlänge einen schmalen Peak auf.
- Es wird nicht am Maximum, sondern auf der Flanke eines Peaks gemessen.

Kontrollieren Sie daher die Richtigkeit der Methode durch die Messung von Standards.

12.1 Extinktionswerte

Extinktionswerte werden als A_{XXX} (XXX steht für die Wellenlänge) dargestellt. Diese Anzeigen entsprechen immer den direkt gemessenen Werten, d.h. ohne Korrekturen, die in die anschließende Auswertung einfließen, wie z.B. Korrekturen für optische Schichtdicken der Küvette oder Background-Korrekturen.

12.1.1 Blank

Alle Extinktionswerte sind immer auf den zuletzt gemessenen Blank (Leerwert) bezogen. Eine Blank-Messung ist daher zu Beginn einer jeden Messreihe obligatorisch und auch während einer Messreihe jederzeit möglich. Die Blank-Messung sollte idealerweise alle Einflussmöglichkeiten auf den Extinktionswert der Messlösung kompensieren können. Der Blank sollte daher mit dem auch für die Probenmessung benutzten Puffer sowie in derselben Küvette wie der Probenwert gemessen werden – es sei denn, die für Blank- und Probenmessung benutzten Küvetten sind optisch gegeneinander abgeglichen, haben also denselben Extinktionswert bei der Messwellenlänge.

12.1.2 Background-Korrektur

Hauptanwendung: Partielle Korrektur von Verfälschungen der Extinktion bei Nukleinsäuremessungen durch Trübungen in der Messlösung. Beispielsweise wird die Extinktion bei 320 nm, die bei reinen Nukleinsäuren etwa bei 0 A liegen sollte, von der Extinktion bei 260 nm, der Messwellenlänge für Nukleinsäuren, subtrahiert.

$$A_{XXX,corrBkgr} = A_{XXX} - A_{Bkgr}$$

$A_{XXX,\ korrBkgr}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

A_{XXX} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

A_{Bkgr} = gemessene Extinktion bei der Background-Wellenlänge.

12.1.3 Küvettenkorrektur

Sämtliche Extinktionswerte, die in Ergebnisberechnungen eingehen, sind auf die Küvetten-Schichtdicke 10 mm normiert. Wird eine Küvette mit einer anderen Schichtdicke benutzt, muss diese Schichtdicke im Parameter **Cuvette** definiert werden. In diesem Fall werden die gemessenen Extinktionen vor der Umrechnung in Probenergebnisse auf Messergebnisse mit einer Küvette der Schichtdicke 10 mm korrigiert.

Diese Korrektur wird angewendet auf:
- Methoden mit Auswertung über Faktor.
- Methoden der Gruppe ***Absorbance***, bei denen nur Extinktionswerte ausgegeben werden.

Die Korrektur wird nicht angewendet auf:
- Methoden mit Auswertung über Standards, da vorausgesetzt wird, dass Standards und Proben in Küvetten derselben Schichtdicke gemessen werden.
- Berechnungen mit Division: Methode **Division** (Methodengruppe **Dual wavelength**) sowie Berechnung von Ratios wie A_{260}/A_{280} (bei Nukleinsäuremessungen).

$$A_{XXX,corrCuv} = A_{XXX} \times \frac{10}{Cuv}$$

$A_{XXX,\ korrCuv}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

A_{XXX} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

Cuv = Schichtdicke der Küvette.

12.2 Auswertung mit Faktor oder Standard

$$C = A \times F$$

C = berechnete Konzentration.

A = Extinktion.

F = Faktor.

Der Faktor ist in der Parameterliste programmiert und kann verändert werden. Er bezieht sich immer auf die Küvettenschichtdicke 10 mm. Wenn Sie den Parameter **Cuvette** ändern, wird die Änderung vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt. Sie müssen den Faktor für die Auswertung also nicht ändern.

Wenn Sie die Konzentrationseinheit ändern, müssen Sie dagegen darauf achten, dass der Faktor an die gewählte Einheit angepasst ist.

Der Faktor wird entweder beim Auswerteverfahren "Factor" direkt als Parameter eingegeben oder beim Auswerteverfahren "Standard" (Auswertung mit einer Standardkonzentration) berechnet:

$$F = \frac{C_S}{A_S}$$

F = berechneter Faktor.

C_S = Konzentration des Standards (als Parameter eingegeben).

A_S = gemessene Extinktion des Standards.

Wurde für den Standard Mehrfachmessung (2 oder 3 Replikate) programmiert, wird aus den gemessenen Extinktionen der Replikate der Mittelwert gebildet und als A_S eingesetzt.

12.3 Auswertung mit Standardkurve/-gerade

Wird mit mehr als einem Standard ausgewertet, können mit dem [Curve fit] im Methodenschritt **measure standards/new** folgende Auswerteverfahren für die Standardkurve/-gerade ausgewählt werden:

Auswerteverfahren	Beschreibung	Erforderliche Mindestzahl an Standardpunkten
linear interpolation	Lineare Punkt-zu-Punkt-Verbindung im Extinktions-Konzentrations-Graphen der Standardauswertung.	Mindestens 2 Standards.
linear regression	Polynomregression für Polynom ersten Grades.	Mindestens 3 Standards.
quadratical regression	Polynomregression für Polynom zweiten Grades.	Mindestens 4 Standards.
cubical regression	Polynomregression für Polynom dritten Grades.	Mindestens 5 Standards.
spline interpolation	Interpolation durch natürliche kubische Splines.	Mindestens 3 Standards.

Zusätzlich kann für Regressionsverfahren gewählt werden, dass die Regressionsgerade (Regressionskurve) durch den Nullpunkt geht.



- Verwenden Sie für Kalibrationsgeraden das Verfahren "linear regression".
- Testen Sie bei kurvenförmigen Verläufen, welches Auswerteverfahren (quadratische Regression, kubische Regression, Spline Interpolation) die für die Standardauswertung am besten geeignete Funktion ergibt. Die Spline Interpolation verbindet die Messpunkte durch kubische Polynome, während die Regressionsverfahren eine quadratische bzw. kubische Funktion so zwischen die Messpunkte legen, dass für die Messpunkte möglichst geringe Abweichungen von der Funktion resultieren.
- Bei den Regressionsverfahren wird neben der berechneten Regressionsgleichung auch das Bestimmtheitsmaß (coefficient of determination) als Maß für die Streuung der Messpunkte um die berechnete Funktion angezeigt. Bei einem Wert von < 0.8 für das Bestimmtheitsmaß wird das Ergebnis mit einer Warnung versehen.
- Wenn der erste Standard die Konzentration "0" hat, wählen Sie die Einstellung, dass die Regressionsgerade (Regressionskurve) durch den Nullpunkt geht.
- Wenn keines der für kurvenförmige Verläufe empfohlenen Verfahren zufriedenstellende Ergebnisse bringen, wählen Sie das Verfahren "linear interpolation".

12.4 Verdünnung

Im Methodenschritt **measure samples** eingegebene Verdünnungen werden bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt:

$$C_{Dil,korr} = C \times \frac{V_P + V_{Dil}}{V_P}$$

$C_{Dil,\,korr}$ = mit Verdünnungsfaktor umgerechnetes Ergebnis

V_P = Volumen der Probe in der Messlösung

V_{Dil} = Volumen des Diluents in der Messlösung

12.5 Spezielle Auswerteverfahren für Nukleinsäuren und Protein UV

Dieser Abschnitt bezieht sich auf die Auswertung von Nukleinsäuren bzw. Proteinen in den Methodengruppen **Nucleic acids** und **Proteins direct UV** sowie der entsprechenden Biomolekülkomponenten in der Methodengruppe **Dye labels**.

12.5.1 Korrektur A_{260} und Korrektur A_{280}

Anwendung: Korrektur des Einflusses der Farbstoffextinktion auf die Nukleinsäure- bzw. Proteinextinktion bei 260 und 280 nm bei den Methoden der Gruppe **Dye labels**.

Die Anwendung des Auswerteverfahrens kann in den Parametern **Correct A260** bzw. **Correct A280** aktiviert werden.

$$A_{XXX,corr} = A_{XXX} - CF \times A_{YYY}$$

$A_{XXX,\,korr}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge 260 nm bzw. 280 nm

A_{XXX} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 260 nm bzw. 280 nm

CF = Korrekturfaktor für die Wellenlänge 260 nm bzw. 280 nm (die beiden Korrekturfaktoren für 260 nm und für 280 nm sind für einen Farbstoff spezifisch und werden in **General Method Parameter: Dyes** im Bereich **Functions** programmiert).

A_{YYY} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge des Farbstoffs.



Die in den Ergebnisanzeigen dargestellten Extinktionswerte sind die direkt gemessenen, nicht korrigierten Extinktionswerte.

12.5.2 Ratio A260/A280 und Ratio A260/A230

Anwendung: Information zur Reinheit der gemessenen Nukleinsäure. Die Anwendung des Auswerteverfahrens kann in den Parametern **A260/280** beziehungsweise **A260/A230** aktiviert werden.

"Ratio" bezeichnet den Quotienten der gemessenen Extinktionen bei den genannten Wellenlängen.

Literaturwerte für die Ratio-Werte bei reinen Nukleinsäuren:

A260/A280
- DNA: 1,8 bis 1,9
- RNA: 1,9 bis 2,0
  (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

A260/A230

Für die Ratio A260/A230 findet man in der Literatur unterschiedliche Angaben für reine Nukleinsäuren:
- DNA: 2,3 bis 2,5
  (The Nucleic Acids, 1955)
- DNA: 1,9
  (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

Die Werte sind stark vom pH-Wert abhängig. Nukleinsäuren sollten daher nicht in Wasser, sondern in einem Puffer mit pH-Wert 7 bis 7,2 gemessen werden (z.B. TE-Puffer).

12.5.3 Umrechnung in molare Konzentrationen und Nukleinsäuremengen

Die Umrechnung kann nur für Nukleinsäuren und Dye-Methoden mit Nukleinsäuren als Biomolekülkomponente angewendet werden. Sie erfolgt im Methodenschritt **process results/More calculations**.

12.5.3.1 Berechnung der Menge

Anwendung: Berechnung der Menge (Masse) an Nukleinsäure im gesamten Probenvolumen.

$$M = C \times V_{P,gesamt}$$

M = berechnete Gesamtmenge (Masse) der Nukleinsäure im Probengefäß. Einheit: µg.

C = aus der Messung berechnete Konzentration der Nukleinsäure. Einheit: µg/mL oder ng/µL.

$V_{P,\,gesamt}$ = Gesamtvolumen der Probe im Probengefäß. Geben Sie diesen Wert in **More calculations** ein. Einheit: µL.

12.5.3.2 Berechnung der molaren Konzentration

Anwendung: Berechnung der molaren Konzentration der Nukleinsäure aus Massenkonzentration und relativer Molmasse. Die Molmasse wird entweder direkt eingegeben oder vom Gerät aus der eingegebenen Zahl der Basen bzw. Basenpaare pro Nukleinsäuremolekül errechnet.

$$C_{Mol} = \frac{C \times 10^3}{MM}$$

C_{Mol} = berechnete molare Konzentration der Nukleinsäure. Einheit: pmol/mL.

C = aus der Messung berechnete Massenkonzentration der Nukleinsäure. Einheit: µg/mL oder ng/µL.

MM = relative Molmasse. Einheit: kDa

Falls in **More calculations** statt der relativen Molmasse die Zahl der Basen bzw. Basenpaaren pro Nukleinsäuremolekül eingegeben wurde, wird MM aus der Zahl der Basen bzw. Basenpaaren berechnet:

Für **dsDNA:**

$$MM = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

Für **ssDNA, RNA, Oligo:**

$$MM = b \times 330 \times 10^{-3}$$

MM = berechnete relative Molmasse; Einheit: kDa

bp = eingegebene Zahl der Basenpaare pro Molekül

b = eingegebene Zahl der Basen pro Molekül



- Für **dsDNA** wird bei der Berechnung der molaren Konzentration eine doppelsträngige Nukleinsäure angenommen. Für die Methoden **ssDNA**, **RNA** und **Oligo** wird eine einzelsträngige Nukleinsäure angenommen.
- Für Methoden, die in der Hauptgruppe ***Routine***, Methodengruppe **Nucleic acids** über **<New Method>** neu programmiert wurden, werden für die Berechnung der molaren Konzentration immer doppelsträngige Nukleinsäuren angenommen.

12.5.4 Berechnung des Faktors für Protein in "General Method Parameter"

Dieser Abschnitt gilt nur für Berechnung der Proteinkomponente in den Methodengruppen **Dye labels** und **Proteins direct UV.** Bei diesen Methodengruppen wird in den Parametern die Proteinkomponente ausgewählt (siehe *Methodenparameter auf S. 40)*. Der Proteinkomponente ist ein Faktor zugeordnet, der in der Funktion **General Method Parameter/Proteins** für jedes Protein eingegeben wird. Alternativ zur Eingabe des Faktors kann entweder $A_{0.1\%}$ oder der Extinktionskoeffizient plus die Molmasse des Proteins eingegeben werden. In diesem Fall wird der Faktor wird wie folgt berechnet:

$$F_P = \frac{1}{A_{0.1\%}}$$

F = Faktor für das Protein; Einheit: g/L.

$A_{0.1\%}$ = Extinktion des Proteins bei einer Konzentration von 0,1 % (1 g/L).

Bei Eingabe des molaren Extinktionskoeffizienten und der relativen Molmasse des Proteins kann $A_{0.1\%}$ hieraus berechnet werden:

$$A_{0.1\%} = \frac{\varepsilon_P}{MM_P}$$

ε_P = molarer Extinktionskoeffizient des Proteins; Einheit: $cm^{-1}M^{-1}$.

MM_P = relative Molmasse des Proteins; Einheit: Da (Eingabe in **General Method Parameter** in kDa).

12.6 Spezielle Auswerteverfahren für die Dye-Methoden

12.6.1 Berechnung des Faktors für den Farbstoff aus dem Extinktionskoeffizienten

Bei den Dye-Methoden wird die Konzentration des Farbstoffs mit einem Faktor aus der gemessenen Extinktion errechnet (siehe *Auswertung mit Faktor oder Standard auf S. 107)*. Der Faktor wird in der Funktion **General Method Parameter/Dyes** für jeden Farbstoff eingegeben. Alternativ zur Eingabe des Faktors kann der Extinktionskoeffizient eingegeben werden. In diesem Fall wird der Faktor wird wie folgt berechnet:

$$F_{Dye} = \frac{10^6}{\varepsilon_{Dye}}$$

F = Faktor für den Farbstoff; Einheit: pmol/µL.

ε = Extinktionskoeffizient für den Farbstoff; Einheit: $cm^{-1}Mol^{-1}L$.

12.6.2 Berechnung der FOI

Als Wert für das Verhältnis von Farbstoffmolekülen zur Menge der Nukleotide in der Nukleinsäure wird bei den Dye-Methoden die Einbaurate (FOI = Frequency of Incorporation) berechnet und angezeigt. Die Berechnung kann für zwei verschiedene Ergebniseinheiten ausgewählt werden:

Einheit MOLEKÜLE dye/kb

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^6 \times MM_{nt}}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

Einheit pmol/µg DNA (bzw. RNA)

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^9}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

A_{YYY} = Extinktion des Farbstoffs.

A_{XXX} = Extinktion der Nukleinsäure.

MM_{nt} = durchschnittliche Molmasse der Nukleotide: 330 g/mol.

F_{NA} = Faktor zur Berechnung der Nukleinsäure

ε_{Dye} = Extinktionskoeffizient für den Farbstoff; Einheit: $cm^{-1}M^{-1}$

12.6.3 Umrechnung in Farbstoffmengen

Die Berechnung der Menge (Masse) an Farbstoff im gesamten Probenvolumen erfolgt im Methodenschritt **process results/More calculations**.

$$M = C \times V_{P,total}$$

M = berechnete Gesamtmenge (Masse) des Farbstoffs im Probengefäß. Einheit: pmol.

C = aus der Messung berechnete Konzentration des Farbsroffs. Einheit: pmol/µL.

$V_{P,\ gesamt}$ = Gesamtvolumen der Probe im Probengefäß; wird vom Anwender in **More calculations** eingegeben. Einheit: µL.

12.7 Dual wavelength

Für Methoden der Gruppe **Dual Wavelength** können Extinktionen, die bei zwei Wellenlängen gemessen wurden, miteinander verrechnet werden, bevor die berechnete Extinktion in die weitere Auswertung mit Faktor oder mit Standard eingeht.

Für die Ermittlung der berechneten Extinktion kann in den Parametern eine Auswertung über Division oder über Subtraktion definiert werden:

$$A_{calc} = \frac{a \times A_1}{b \times A_2} \times c + d$$

$$A_{calc} = [(a \times A_1) - (b \times A_2)] \times c + d$$

A_1, A_2 = gemessene Extinktionen.

a, b, c, d = Faktoren, die in den Parametern eingegeben werden. Es können auch negative Zahlen eingegeben werden.

12.8 Kinetik

Aus den zur Auswahl stehenden Messverfahren wird entweder ein Extinktionswert **A** oder eine auf eine Minute normierte Extinktionsdifferenz **ΔA/min** ermittelt. Dieser ermittelte Extinktionswert geht in die Konzentrationsberechnung mittels Faktor oder (nur für **Advanced kinetics**) mit Einpunktstandard ein.

12.8.1 Messverfahren

Endpoint

Am Ende der Wartezeit **(Inkubationszeit,** Parameter **Delay)** wird ein Extinktionswert gemessen und für die Konzentrationsberechnung benutzt.

Two point

Nach Ablauf des Delay wird ein Messpunkt, nach Ablauf der Messzeit ein zweiter Messpunkt genommen. Aus Extinktions- und Zeitdifferenz wird ΔA/min berechnet:

$$\frac{\Delta A}{\min} = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1}$$

A_1, t_1 = Extinktion und Zeitpunkt für den ersten Messpunkt.

A_2, t_2 = Extinktion und Zeitpunkt für den zweiten Messpunkt.

Linear regression

Nach Ablauf des Delay werden in festen Zeitintervallen Messpunkte von Beginn bis zum Ende der Messzeit aufgenommen. Über die Messpunkte im Extinktions-Zeit-Diagramm wird eine lineare Regression durchgeführt. Ergebnis: Extinktionswert in ΔA/min.

12.8.2 Reagenzleerwert

Bei den Methoden der Gruppe **Advanced kinetics** kann die Messung eines Reagenzleerwerts in den Parametern programmiert werden. Primäre Anwendung: Kompensation einer Reagenzdrift bei dem Messverfahren "Lineare Regression". Der Reagenzleerwert enthält das Reagenz und demineralisiertes Wasser statt Probe und wird nach demselben Messverfahren wie die Probe gemessen. Er wird zu Beginn der Probenserie gemessen; das Extinktionsergebnis wird von dem Extinktionsergebnis der Probe vor der Auswertung subtrahiert:

$$A_{RB,corr} = A - A_{RB}$$

$A_{RB,\,corr}$ = korrigiertes Extinktionsergebnis (in A oder ΔA/min) der Probe.

A = gemessenes Extinktionsergebnis (in A oder ΔA/min) der Probe.

A_{RB} = Extinktionsergebnis (in A oder ΔA/min) des Reagenzleerwerts.



Wenn im Methodenschritt **process results** das Zeitfenster für die Kinetikauswertung mit linearer Regression verkürzt wird, wird das kürzere Messfenster automatisch auch für die Berechnung des Reagenzleerwerts benutzt, der in die Berechnung dieses Probenergebnisses einbezogen wird. Der Reagenzleerwert wird (nur) für die Berechnung dieses Probenergebnisses also noch einmal neu berechnet. Für die Berechnung der anderen Probenergebnisse wird weiterhin das Reagenzleerwertergebnis benutzt, das auf Basis des ursprünglich benutzten Zeitfensters errechnet wurde, herangezogen.

Bei Auswertung der Kinetikmethode mit Standards steht die Messung eines Reagenzleerwerts nicht zur Verfügung. Hier kann alternativ der Reagenzleerwert als der erste Standard (Konzentration "null") definiert werden.

13 Bestellinformationen

Best.-Nr. (International)	Best.-Nr. (Nordamerika)	Beschreibung
		Eppendorf BioSpectrometer basic
6135 000.009	–	230 V/50 – 60 Hz, Netzstecker Europa, weitere Netzanschlussvarianten erhältlich
6135 000.017	6135000017	120 V/50 – 60 Hz, Netzstecker Nordamerika
		Eppendorf BioSpectrometer kinetic
6136 000.002	–	230 V/50-60 Hz, Netzstecker Europa, weitere Netzanschlussvarianten erhältlich
6136 000.010	6136000010	120 V/50-60 Hz, Netzstecker Nordamerika
		BioSpectrometer Referenzfiltersatz
6135 928.001	6135928001	Filtersatz zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und Wellenlängenrichtigkeit (gemäß NIST)
		Eppendorf µCuvette G1.0
6138 000.018	6138000018	Eppendorf Mikrovolumen-Messzelle für die Eppendorf BioPhotometer und BioSpectrometer
		Thermodrucker DPU-S445
		inkl. Netzteil und Druckerkabel
6135 011.000		230 V, EU
6135 010.004	6135010004	115 V/110V, USA, JP
6135 012.007		230 V, UK
		Thermopapier
0013 021.566	952010409	5 Rollen
		Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm
		Original Eppendorf Kunststoffküvette, PCR clean, Protein-free
0030 106.300	952010051	50 - 2 000 µL, 80 Stück, einzeln verpackt
		Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm
		Eppendorf Quality
0030 106.318	952010069	50 - 2 000 µL, 200 Stück, wiederverschließbare Box
		Eppendorf macro Vis Cuvettes
0030 079.345	0030079345	10 × 100 Stück
		Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes
0030 079.353	0030079353	10 × 100 Stück
		Küvettenständer
4308 078.006	940001102	für 16 Küvetten

EG-Konformitätserklärung
EC Conformity Declaration

Das bezeichnete Produkt entspricht den einschlägigen grundlegenden Anforderungen der aufgeführten EG-Richtlinien und Normen. Bei einer nicht mit uns abgestimmten Änderung des Produktes oder einer nicht bestimmungsgemäßen Anwendung verliert diese Erklärung ihre Gültigkeit.

The product named below fulfills the relevant fundamental requirements of the EC directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the product or an unintended use this declaration becomes invalid.

Produktbezeichnung, Product name:

Eppendorf BioSpectrometer® kinetic

Produkttyp, Product type:

Photometer

Einschlägige EG-Richtlinien/Normen, Relevant EC directives/standards:

2006/95/EG; EN 61010-1

2004/108/EG; EN 55011, EN 61326-1

2011/65/EU

Vorstand, Board of Management:

Projektmanagement, Project Management:

07.08.2013

Hamburg, Date:



Eppendorf AG · Barkhausenweg 1 · 22339 Hamburg · Germany



Evaluate Your Manual

Give us your feedback.
www.eppendorf.com/manualfeedback

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact
Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany
eppendorf@eppendorf.com · www.eppendorf.com